Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

ASCHANTIN, EIN NEUES LIGNAN AUS PIPER GUINEENSE

UNTERSUCHUNGEN ÜBER VERFÄLSCHUNGEN DER FRUCTUS CUBEBAE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Zander
aus Berlin

17

1961

Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

ASCHANTIN, EIN NEUES LIGNAN AUS PIPER GUINEENSE

UNTERSUCHUNGEN ÜBER VERFÄLSCHUNGEN DER FRUCTUS CUBEBAE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Zander
aus Berlin

89/61

Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 19.Mai 1961

Tag der Promotion: 19. Juli 1961

Meinen Eltern und

meiner Frau

in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546809_0049

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität in Berlin-Dahlem unter der Anleitung seines Direktors, Herrn Professor Dr. R. HÄNSEL, durchgeführt.

Ich danke Herrn Professor Dr. R. HÄNSEL, meinem verehrten Lehrer, für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes, für die Anregung, das vorliegende Thema zu bearbeiten, sowie für die stete wissenschaftliche Förderung.

Ebenfalls danken möchte ich dem Herrn Prorektor Professor Dr. G. SCHENCK in seiner Eigenschaft als Direktor des Pharmazeutischen Institutes der Freien Universität für die freundliche Erlaubnis zum Gebrauch von Geräten und Apparaturen des Pharmazeutischen Institutes.

Herrn Dr. E. WINDE und Frau Dr. L. LANGHAMMER gilt mein Dank für anregende Diskussionen.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung und Problemstellung	8
II	Allgemeines zur Pharmakognosie der Gattung Piper: Kurze Charakteristik der Gattung Piper; die Drogen der Gattung Piper; Herkunft, Merkmale und Verfälschungen der Fructus Cubebae; Übersicht über die Inhaltsstoffe der Gattung Piper	10
III	Eigene Untersuchungen	
	1) Analytische Voruntersuchungen	21
	2) Die Isolierung zweier schwefelsäurepositiver Inhaltsstoffe A und P	23
	3) Die Identifizierung der Substanz P als Pseudocubebin = d-Sesamin	27
	4) Zur Konstitution der Substanz A Identifizierung von A als (+)2-(3',4'-Methylendioxyphenyl)-6-(3",4",5"-Trimethoxyphenyl)-3,7-Dioxabicyclo-[3,3,0]-Oktan	31
	5) Zur Analytik der Piperaceenlignane	49
IV	Zusammenfassung	52
V	Experimenteller Teil	
	A Cubebin aus Piper cubeba	
	1) Isolierung von Cubebin zu Vergleichszwecken	53
	a) nach einer von E.MAMELI und R.D.HAWORTH und W.KELLY beschriebenen Methode	
	b) nach einem neuen, chromatographischen Verfahren	
	2) Eigenschaften des Cubebins	
	a) Löslichkeit und Farbreaktionen	54
	b) Spezifische Drehung	55
	c) Papierchromatographie des Cubebins	55
	d) Das Verhalten des Cubebins gegen verdünnte Alkalilösung	56
	3) UV-Absorptionsspektrum des Cubebins	56
	B Piperin aus Piper nigrum	
	1) Isolierung von Piperin zu Vergleichszwecken	57
	2) Eigenschaften des Piperins	57

Seite

a) Löslichkeit und Farbreaktionen 57
b) Qualitativer Stickstoffnachweis 57

C Pseudocubebin aus Piper guineense SCHUM.et THONN.

1) Zur Herkunft und Identifizierung der Droge Vorbereitung und Extraktion 59
2) Die Isolierung von Pseudocubebin aus einem Rohkristallisat 60
3) Eigenschaften des Pseudocubebins
a) Löslichkeit und Farbreaktionen 60
b) Spezifische Drehung 61
c) Papierchromatographie des Pseudocubebins und eine papierchromatographische Auftrennung von Cubebin und Pseudocubebin 61
4) UV-Absorptionsspektrum von Pseudocubebin 61
5) IR-Absorptionsspektren von Pseudocubebin und d-Sesamin 62

D Aschantin aus Piper guineense SCHUM.et THONN.

1) Papierchromatographie von Aschantin und Pseudocubebin 63
2) Dünnschichtchromatographie von Aschantin und Pseudocubebin
a) Bereitung der Chromatographieplatten mit Fluoreszeinschichten 63
b) Praktische Durchführung
α) Die Auftrennung des nach C 2) gewonnenen Rohkristallisates 64
ß) Die Auftrennung eines Aetherextraktes von P.guineense 65
3) Die Isolierung von Aschantin neben Pseudocubebin nach einem säulenchromatographischen Verfahren
a) Die Aufarbeitung eines kristallinen Gemisches beider Stoffe 65
b) Die Trennung von Pseudocubebin und Aschantin aus dem Aetherextrakt der Droge 67

Seite

4) Eigenschaften des Aschantins
   a) Löslichkeit und Farbreaktionen 67
   b) Qualitative Prüfung auf Stickstoff 68
   c) Qualitative Prüfung auf Schwefel 68
   d) Elementaranalyse 69
   e) Molekulargewichtsbestimmung 69
   f) Spezifische Drehung 69
   g) Maßanalytische Bestimmung von Methoxylgruppen 70
   h) Nachweis von Dioxymethylengruppen
      α) Modifizierter Chromotropsäuretest nach EEGRIWE 70
      ß) Methylendioxytest mit Gallussäure 70
   k) Azetylierung von Aschantin 71
5) UV-Absorptionsspektrum des Aschantins 71
6) IR-Absorptionsspektrum des Aschantins 71
7) Der Abbau von Aschantin mit Kaliumpermanganat
   a) Die Herstellung von Piperonylsäure zu Vergleichszwecken 72
   b) Die Herstellung von 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure zu Vergleichszwecken 73
   c) Ein papierchromatographischer Nachweis der Piperonyl- und 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure 73
   d) Der Abbau von Pseudocubebin mit $KMnO_4$ als Modellversuch 74
   e) Der Abbau von Aschantin mit $KMnO_4$ 74
   f) Modellversuch über den Nachweis von Piperonyl- und 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure nach Einfluß von Permanganat unter den Bedingungen des Abbaus von Pseudocubebin 75
8) Die Alkalischmelze von Pseudocubebin und Aschantin 75

Seite

9) Die Einwirkung von Salpetersäure auf Aschantin
   a) Die Isolierung von Dinitropseudocubebin als Modellversuch 76
   b) Das Verhalten von Aschantin gegen Salpetersäure 76
10) Der Nachweis von Piperonylsäure nach Pyrolyse von Aschantin 76
11) Die katalytische Hydrierung von Aschantin mit Palladium-Kohle
   a) Die Bereitung des Palladium-Kohle-Katalysators 78
   b) Hydrierung von Pseudocubebin zum Diol P als Modellversuch 78
   c) IR-Absorptionsspektrum des Diol P 79
   d) Azetylierung von Diol P zu Azetyl-P 80
   e) IR-Absorptionsspektrum von Azetyl-P 80
   f) Die Hydrierung von Aschantin zu einem Monol-Diol-Gemisch G 80
   g) IR-Absorptionsspektrum vom Monol-Diol-Gemisch G 81
   h) Azetylierung von Monol-Diol-Gemisch G zu Azetyl-G und Azetylbestimmung 82
   k) IR-Absorptionsspektrum von Azetyl-G 83

I Einleitung und Problemstellung

Es war seit jeher eine der wesentlichen Aufgaben der Pharmakognosie, Methoden zur Reinheitsprüfung von Drogen anzugeben und Verfahren zur Erkennung von Drogenverfälschungen zu beschreiben.

Die klassischen Methoden der Pharmakognosie beruhen seit SCHLEIDEN auf mikroskopisch-anatomischen Untersuchungen. Die vergleichende anatomische Methode hat jedoch ihre Grenzen dort, wo bei morphologischer Gleichheit Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Drogen bestehen und damit häufig auch Unterschiede in den therapeutischen Eigenschaften.

Seit langem zieht man daher zusätzlich chemische Hilfsmittel in Form von Mikro- und Tüpfelreaktionen heran: sie sollen einmal den anatomischen Befund erhärten, zum anderen aber auch der näheren Charakterisierung der Verfälschungen dienen.

Als häufigstes Surrogat der Fructus Cubebae DAB 6 treten die sog. Kongo-Kubeben in Erscheinung[4)]. Sie verhalten sich teilweise den echten Kubeben sehr ähnlich, indem sie mit konz.Schwefelsäure eine Rottüpfelung zeigen. Kongo-Kubeben anderer Herkunft zeigen dagegen eine braungelbe Tüpfelung, die nach einigen Minuten in Braunrot übergeht.

Die Erklärung für den unterschiedlichen Ausfall der Reaktion führt BERGER auf die verschiedene Herkunft der Stammpflanzen zurück. Danach tritt Rotfärbung auf bei den Früchten von Piper Clusii DC.[4)36)], während Früchte von Piper guineense SCHUM. die andere Reaktion zeigen.

BERGERs Ausführungen zu diesem Thema fußen auf einer Arbeit von PEINEMANN[36)]. PEINEMANN gibt an: "Piper guineense wurde erst durch SCHUMANN als besondere Art von Piper Clusii abgetrennt". Diese Behauptung ist völlig aus der Luft gegriffen und ging anscheinend aus von einer unverstandenen Abkürzung des Autornamens. "SCHUM." bedeutet nämlich SCHUMACHER und nicht SCHUMANN! Von SCHUMACHER aber stammt die erste Beschreibung der Pflanze unter dem Namen Piper guineense SCHUMACH. et THONN. 1828 (1837). Zu einer zweiten Beschrei-

bung kam es 1843 unter dem Namen Cubeba clusii MIQ..1869 hat CASIMIR de CANDOLLE Cubeba clusii MIQ. (= Piper guineense SCHUM. et THONN.) zwei Arten zugeordnet, und zwar:

I.) Piper guineense SCHUMACH. et THONN.,
(Guinea bis Angola)

II.) Piper clusii C.DC.,
(Fernando Poo).

Die morphologischen Unterschiede beider Arten sind minimal.

Später führen diese zwei Arten nur noch auf:
a) Th.DURAND et SCHINZ, 1896+)
b) Th. et H.DURAND, 1900++)

Alle anderen Autoren fassen zu der einen Art Piper guineense SCHUMACH. et THONN. zusammen; das ist auch der gültige Name.

Offensichtlich herrscht große Verwirrung in der pharmakognostischen Literatur über die Stammpflanze der Droge, die unter der Bezeichnung Kongo-Kubeben in den Handel gelangt. Die Unklarheiten betreffen nicht nur die Taxonomie und die wissenschaftliche Nomenklatur, sondern auch Angaben über histochemische Farbreaktionen.

Wir hatten Gelegenheit, größere Mengen Kongo-Kubeben zu erhalten, bei denen die mit Schwefelsäure zunächst auftretende braungelbe Färbung nach etwa 10 Minuten in ein schmutziges Violett überging. Unser Ziel war es, die stoffliche Ursache für die erwähnte Reaktion kennenzulernen, die schwefelsäurepositiven Substanzen aus der Droge zu isolieren und deren Konstitution zu ermitteln.

+) Th.DURAND et SCHINZ, Acad.Roy.Sc.Belg.,Mèm.in -8°, LIII, 4., p.237 (1896)

++) Th. et H.DURAND, Sylloge Florae Congolensis 1909

II Allgemeines zur Pharmakognosie der Gattung Piper

Die Gattung Piper gehört zur Familie der Piperaceae, die A.ENGLER[15] bei der Aufstellung seines Systems als erste Familie der Dicotyleae einordnete. Die allgemeinen botanischen Merkmale der Gattung Piper sind folgende: Die Blüten sind meist eingeschlechtlich, ohne Perianth und haben überwiegend zwei oder drei, selten vier oder sechs Staubblätter; die Stempel tragen 2 - 5 Narben. Die unansehnlichen, grünen, auf dünnen Kolben stehenden Blüten entwickeln sich zu einer einsamigen Steinfrucht. Die Gattung besteht überwiegend aus Sträuchern, seltener aus Bäumen oder Kräutern. Alle Pflanzenteile weisen einen mehr oder weniger scharfen Geschmack auf, der vorzugsweise auf Harze und aetherische Öle, aber auch auf spezifische Acria z.B. vom Typus des Piperins und Chavicins zurückzuführen ist.

Die Gattung Piper umfaßt beinahe 600 Arten, die über die Tropenländer der Alten und Neuen Welt verbreitet sind. Besonders zahlreich tritt sie im tropischen Amerika und im indischen Monsungebiet auf, während verhältnismäßig wenige Arten in Afrika zu finden sind.

Viele Stammpflanzen aus der Gattung Piper liefern uns Drogen, die vorwiegend als Gewürze wirtschaftliche Bedeutung erlangt haben. Als Arzneidrogen werden hauptsächlich Folia Matico (von P.angustifolium und anderen Piperarten), Folia Piperis betle (von P.betle), Fructus Piperis longi (von P.longum), Rhizoma Kava-Kava (von P.methysticum), Fructus Piperis nigri (von P.nigrum) und Fructus Cubebae (von P. Cubeba) verwendet.

Von diesen Drogen sind die wirtschaftlich bedeutenderen Fructus Piperis nigri und Fructus Cubebae häufig Verfälschungen unterworfen. So werden für P.nigrum die Früchte von P.boreense und P.Clusii[3] (Kongo), ferner der sog. Kissipfeffer von P.Famechous aus Indien und Früchte der brasilianischen Pfefferarten P.umbellatum und P.aduncum verwendet.

Die Verfälschungen der Kubeben sind ebenfalls seit langem bekannt. Sie traten nach BERGER[2)] bis zum Jahre 1885 in bescheidenem Umfang auf. Vorwiegend dienten als Surrogate Fructus Rhamni catharticae, Fructus Amoni, Piper ribesioides, Cubeba Neesii, Piper nigrum, Piper caninum, Piper anisatum, Piper crassipes und Piper Lowong. Nach 1885 jedoch nahmen die Verfälschungen immer größere Ausmaße an. Auch die Anzahl der beobachteten Surrogate erhöhte sich beträchtlich. Wir kennen heute schließlich 25 Kubebenverfälschungen, und nach Auskunft von Importfirmen sind so gut wie keine echten Kubeben mehr im Welthandel erhältlich.

BERGER[4)] stellte als häufigste Kubebenverfälschung in den letzten Jahren die Früchte von Piper guineense SCHUM. et THONN. fest. Da sich meine eigenen Untersuchungen ausschließlich auf diese Piperart beziehen, erscheint es mir notwendig, eine morphologische und anatomische Beschreibung der echten Kubeben und der Früchte von P.guineense anzuschließen, sowie die bestehenden Möglichkeiten zur näheren Identifizierung von P.guineense und anderer Surrogate zu beschreiben.

Die Heimat der echten Kubeben ist das Malayische Archipel. P.Cubeba wird besonders auf Java, Sumatra, Borneo, in Indien, im Kongogebiet sowie in Westindien kultiviert. Nach FLÜCKIGER[20)] werden Kubeben kaum für sich allein angebaut, vielmehr im Verein mit Kaffee, dem sie als Schattenpflanze dienen.

Die Droge, auch Semen Cubebae, Piper caudatum, Schwindelkörner oder Schwanzpfeffer genannt, besteht aus den voll ausgewachsenen, aber noch nicht ganz reifen, getrockneten Früchten. Sie besitzt einen würzigen und bitteren Geschmack und ist von aromatischem Geruch. Da die Droge aus unreifen Früchten besteht, ist ihre dunkelgraubraune Oberfläche meist gerunzelt und der Innenraum von dem geschrumpften Samen oft nur zu einem geringen Teil ausgefüllt. Die Früchte werden bis 15 mm lang und bestehen aus einem etwa 4-5 mm dicken Oberteil und einem bis 1 mm dicken stielartigen Un-

terteil, das häufig die Hälfte der Fruchtlänge ausmacht und lediglich die verlängerte Basis der Frucht darstellt.

Die anatomische Untersuchung zeigt eine kleinzellige und dickwandige Epidermis, unter der eine Schicht kleiner, ziemlich quadratischer Steinzellen liegt. Es schließt sich eine dicke Schicht parenchymatischen Gewebes an, in der sich zahlreiche Ölzellen befinden und an deren Innenwand die Gefäßbündel verlaufen. Das Parenchym wird abgeschlossen durch die sog. Hartschale, die aus großen und langgestreckten Steinzellen besteht. Nach innen folgt nun der Samen, der sich, wie überhaupt die Samen aller Piperaceenfrüchte, durch sein außerordentlich großes Perisperm auszeichnet. In das Perispermgewebe eingestreut liegen wieder zahlreiche Ölzellen. Im stielartigen Fortsatz der Früchte sind langgestreckte Steinzellen angeordnet, die eine Stabform angenommen haben.

Von den hier beschriebenen echten Kubeben unterscheiden sich die Früchte von P.guineense bereits durch ihr unterschiedliches Aussehen. Die auch als Kongo-Kubeben oder Aschantipfeffer[30] gehandelte Droge dieser westafrikanischen Piperaceenart ist im allgemeinen etwas kleiner als die echte Kubebe. Vielfach zeigen die kaum gerunzelten Früchte ein bestäubtes, schimmeliges Aussehen, was ihnen eine weißlich-graue Farbe verleiht.

Die anatomische Untersuchung läßt eine große Anzahl über das ganze Parenchym verstreuter Sekretzellen erkennen, die fettes und aetherisches Öl enthalten. Der auffallendste Unterschied zu den echten Kubeben besteht nun im Fehlen einer äußeren und inneren Steinzellenschicht, und es ist daher leicht, die Droge als Verfälschung der Fructus Cubebae zu erkennen.

Nun ist jedoch allein das Fehlen von Steinzellen kein hinreichendes Kriterium dafür, daß tatsächlich P.guineense als Verfälschung vorliegt. Es gibt nämlich verschiedene Piperarten, die diese Voraussetzung ebenfalls erfüllen.

PEINEMANN[36] beschäftigte sich ausführlich mit den Kubebenverfälschungen und den Möglichkeiten, sie genau zu identifizieren. Er unterteilte die Surrogate nach morphologischen und taxonomischen Gesichtspunkten in drei große Gruppen:

I. Piperaceenfrüchte mit stielartigem Fortsatz des Pericarps
II. Sitzende Piperaceenfrüchte
III. Früchte anderer Familien

Diese Einteilung hat später BERGER[2] bei der Aufstellung seines Bestimmungsschlüssels für Kubebenverfälschungen im wesentlichen übernommen. Während nun Drogen, die in die Gruppen II (z.B. P.nigrum) und III (z.B. Daphnidium Cubeba, Lauraceae) gehören, ohne weiteres als Verfälschungen zu erkennen sind, gestaltet sich die Identifizierung der Drogen der ersten Gruppe äußerst schwierig. PEINEMANN zog daher zur weiteren Untergliederung das Vorhandensein bzw. Fehlen von Steinzellen in der Fruchtwand heran.

Legt man dieses anatomische Merkmal zugrunde, dann gehören die afrikanischen Arten P.Clusii D.C., P.borbonense D.C. und P.guineense SCHUM., sowie die indischen Arten P.caninum BLUME, P.Lowong BLUME, Ceylonpfeffer und P.phyllostictum (MIQ.) C. D.C. in eine Abteilung, da ihnen allen sowohl eine innere als auch äußere Steinzellenschicht in der Fruchtwand fehlt.

Da in den meisten Fällen das Herkunftsland der Droge mit Sicherheit in Erfahrung gebracht werden kann, beschränken sich die weiteren Untersuchungen auf die drei afrikanischen oder vier indischen Arten. Wie ich bereits ausführte, sind in letzter Zeit fast ausschließlich Kubebenverfälschungen afrikanischer Herkunft beobachtet worden. Ich möchte daher kurz die Identifizierung der afrikanischen Arten erläutern, zumal meine eigenen Untersuchungen sich auf Piper guineense beziehen werden.

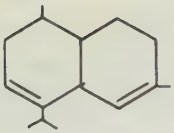
In der Gruppe der anatomisch gleichen P.Clusii, P.guineense und P.borbonense zeichnet sich letzterer durch seine außer-

ordentliche Kleinheit aus. P.borbonense liefert nach BERGER tatsächlich die kleinsten Kubeben, die bisher beobachtet wurden, und man kann sie von den wesentlich größeren Früchten von P.Clusii und P.guineense relativ gut unterscheiden. Diese beiden Arten dagegen sind sich so ähnlich, daß weder äußerlich noch mikroskopisch Unterschiede zu bemerken sind. Zur näheren Charakterisierung können hier phytochemische Tüpfelreaktionen mit konz. Schwefelsäure herangezogen werden, deren Farbausfall für die eine oder andere Art charakteristisch ist. So zeigen Querschnitte von P.Clusii unter dem Mikroskop eine intensive Rottüpfelung, während P.guineense eine hellbraune Färbung zeigt.

Diese verschiedenen Tüpfelreaktionen beruhen offensichtlich auf Unterschieden in der chemischen Zusammensetzung der Drogeninhaltsstoffe. Es soll daher im folgenden ein Überblick über die bisher aus der Gattung Piper bekannten Stoffklassen und ihrer Vertreter gegeben werden.

Die Gattung zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an scharfen und aromatischen Stoffen aus. Diese Eigenschaften werden einmal durch die fast allen Piperdrogen gemeinsamen aetherischen Öle, zum andern aber auch von alkaloidartigen Stoffen vom Typus des Piperins und Chavicins hervorgerufen.

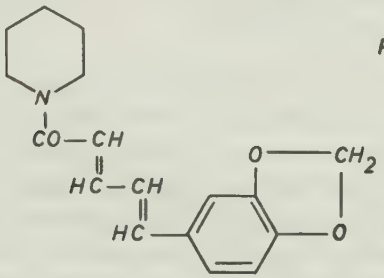
Nach MORITZ[35)] sind die aetherischen Öle Pflanzeninhaltsstoffe von im allgemeinen flüssiger Beschaffenheit, die sich durch ihre Flüchtigkeit, durch ihre lipophilen Eigenschaften, sowie durch ihre physiologische Eigentümlichkeit, den Geruchssinn zu reizen, auszeichnen. Als lipoidlösliche Körper dringen sie leicht durch die lipoiden Bestandteile der Plasmaoberflächen in tierische und pflanzliche Zellen ein und üben hier eine stark desinfizierende Wirkung aus. Es ist auffallend, daß die Bestandteile des aetherischen Öles aus Piperarten ausschließlich Sesquiterpene, also C_{15}-Körper vom Typ des Cadinens darstellen.



GRUNDGERÜST EINES BICYCLISCHEN SESQUITERPENS

VONASEK und Mitarbeiter[42] studierten gerade in letzter Zeit die Zusammensetzung des aetherischen Öles vieler Kubebenverfälschungen. Sie fanden hierbei neben dem bereits erwähnten Cadinen noch einige diesem Stoff nahe verwandte flüssige Terpene, sowie drei kristallisierende Sesquiterpenalkohole: Cadinol, Ledol und den sog. Kubebenkampfer.

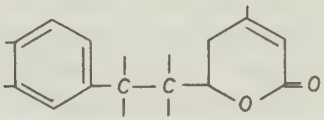
Während diese aetherischen Öle den aromatischen Geruch und Geschmack der meisten Piperdrogen bedingen, werden als eigentlich scharf schmeckende Prinzipien die Stoffe Piperin und das ihm stereoisomere ölige Chavicin angesehen. Piperin ist chemisch ein Säureamid und als Piperidid der Piperinsäure aufzufassen[32]. Es wird aus diesem Grunde auch in die Gruppe der Alkaloide eingeordnet.



PIPERIN

BLAGOWESTSCHENSKI[6] beschreibt das Piperin als einen für die ganze Familie der Piperaceen charakteristischen Inhaltsstoff. Diese Feststellung bedarf zumindest der Einschränkung, daß Piperin nur in der Hälfte der bisher untersuchten Piperaceen gefunden wurde. Es ist von analytischem Interesse, daß Piperin mit konz. Schwefelsäure blutrot tüpfelt und sich durch diese Reaktion bereits im Drogenmaterial leicht zu erkennen gibt.

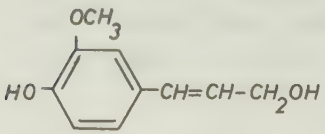
Ähnlich tüpfelnde Inhaltsstoffe sind aus dem Rhizom von P.methysticum isoliert worden. Es handelt sich hierbei um Substanzen, die zur Verbindungsklasse der α-Pyrone gehören und die unter dem Namen Kawain, Methysticin und Yangonin bekannt sind.



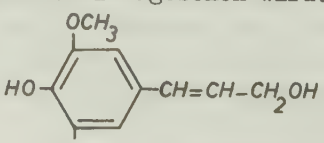
BAUPRINZIP DER TYPISCHEN INHALTSSTOFFE VON P. METHYSTICUM

Die Besprechung der bisher aus Piperdrogen isolierten Naturstoffe soll nun mit zwei Verbindungen abgeschlossen werden, die im Verlauf der chemischen Untersuchungen von Kubeben und ihrer Verfälschungen isoliert wurden. Es handelt sich um die beiden Lignane Cubebin und Pseudocubebin, die wegen ihrer charakteristischen Färbung mit konz. Schwefelsäure neben dem bereits beschriebenen Piperin bei mikrochemischen Prüfungen von großer Bedeutung sind.

Der Begriff des Lignans wird von HAWORTH[26] erstmalig für eine Gruppe von Naturstoffen gebraucht, deren Entstehung durch ß-Verknüpfung der Seitenketten gewisser Phenylpropan-Derivate erklärt werden kann. Damit stehen die Lignane im engen biogenetischen Zusammenhang mit den Ligninen, über deren Biogenese auf Grund der Forschungsergebnisse von KLASON[31], ERDTMAN[17], FREUDENBERG[21] und KRATZL[33] heute weitgehende Übereinstimmung herrscht. Als Stammsubstanz der Coniferenlignine gilt das Coniferin bzw. sein Aglykon, der Coniferylalkohol, während als Stammsubstanz der Laubholzlignine das Syringin oder sein Aglykon, der Sinapinalkohol, in Gemeinschaft mit Coniferylalkohol angesehen wird.



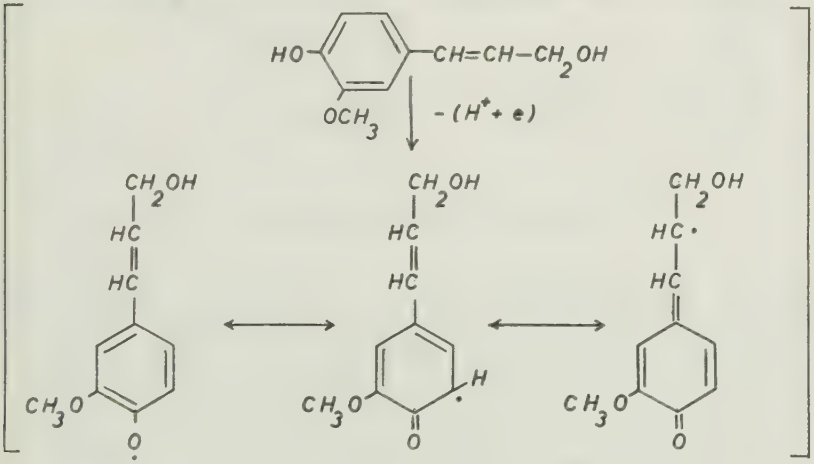
CONIFERYLALKOHOL



SINAPINALKOHOL

Beide Grundsubstanzen wiederum haben ihren Ursprung in Säuren der C_6C_3-Gruppe, die über die aus Assimilationsprodukten gebildete Shikimisäure entstehen.

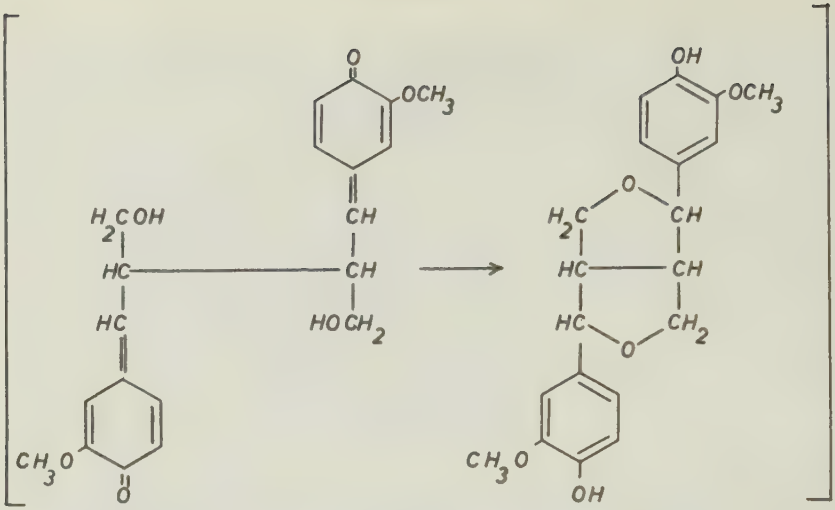
Nach der heutigen Auffassung wird die Bildung des Coniferenlignins durch eine enzymatische Dehydrierung des Coniferylalkohols eingeleitet. Man betrachtet diesen ersten Schritt als Entzug des H-Atoms der Phenolhydroxylgruppe unter Bildung eines mesomeren Radikals.(Vgl. Formelbild A)



FORMELBILD A (NACH E. ADLER[1])

Sowohl durch Paarung zweier Radikale, als auch durch einen Angriff eines Radikals auf ein unverändertes Coniferylalkoholmolekül entstehen dimere Zwischenprodukte, die eine oder im Falle der ß,ß-Kupplung zwei Chinonmethidgruppierungen enthalten.

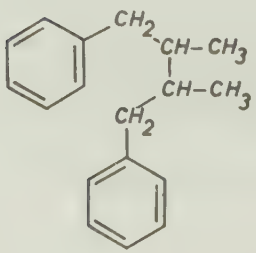
Diese Zwischenprodukte stabilisieren sich durch Anlagerungsreaktionen, die sich an den besonders reaktionsfähig geltenden Chinonmethidsystemen vollziehen. So lagern sich in dem durch ß,ß-Kupplung entstandenen dimeren Chinonmethid die beiden primären Carbinolhydroxyle an die chinoiden Systeme an, wobei das Pinoresinol - ein Lignan - entsteht. (Vgl. Formelbild B)



FORMELBILD B (NACH ADLER[1])

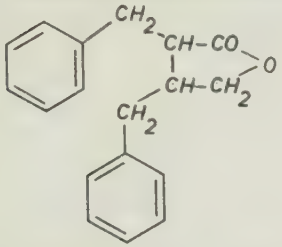
Lignane und Lignine haben somit den gleichen biogenetischen Ursprung. Sie unterscheiden sich in ihrem Aufbau nur dadurch, daß die Lignane auf einer dimeren Kondensationsstufe stehengeblieben sind. Natürlich vorkommende Trimere oder Tetramere sind nach HEARON und MacGREGOR[29] bisher nicht aufgefunden worden. Die Lignane sind bisher aus den verschiedensten Pflanzenteilen wie Wurzeln, Blättern und Früchten, sowie aus pflanzlichen Harzen isoliert worden. Sie enthalten ein oder mehrere asymmetrische C-Atome und sind daher optisch aktiv. Je nach Verkettungsart der beiden die Seitenphenyle verbindenden C_3-Körper können die Lignane in fünf Hauptgruppen eingeteilt werden:

1. Diarylbutan-Derivate



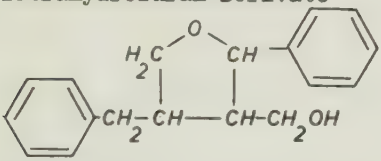
Nordihydroguaiaretic-Säure

2. Dibenzylbutyrolacton-Derivate



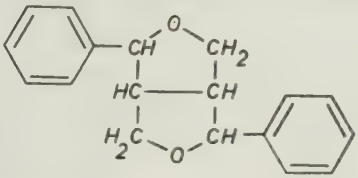
Hinokinin
Arctigenin
Cubebin

3. Tetrahydrofuran-Derivate



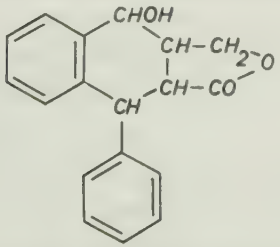
Lariciresinol

4. Diaryl-dioxabicyclo-oktan-Derivate



Pinoresinol
Eudesmin
Pseudocubebin (Sesamin)
Gmelinol

5. Aryltetrahydronaphthol-Derivate



Podophyllotoxin

Die zu den einzelnen Gruppen angeführten Lignane stellen nur Beispiele dar. Insgesamt sind bisher etwa 30 natürlich vorkommende Lignane aus Pflanzen der verschiedensten Familien isoliert worden. Auf die Piperaceen entfallen davon das aus P.Cubeba erstmalig von CASSOLA[13] 1834 erhaltene Cubebin und das von PEINEMANN[36] 1895 aus den Früchten von P.Lowong isolierte Pseudocubebin. Ob und in welchem Maße Vertreter dieser Stoffklasse auch in den von mir untersuch-

ten Früchten von P.guineense anzutreffen sind, werden die folgenden eigenen Untersuchungen zeigen.

III Eigene Untersuchungen

1) Analytische Voruntersuchungen

Behandelt man Querschnitte der Kongo-Kubeben mit konz.Schwefelsäure, so färbt sich das ganze Gewebe braungelb. Diese Färbung geht nach etwa 10 Minuten in ein schmutziges Violett über. Wie bereits dargelegt war es Ziel der vorliegenden Untersuchung, die für die Schwefelsäurereaktion verantwortlichen Chromogene zu isolieren und deren Konstitution zu ermitteln.

Es ist von vornherein damit zu rechnen, daß es sich um mehr als einen Stoff handelt, der für diese Tüpfelreaktion der Guineense-Früchte verantwortlich ist. Daher sollte zunächst versucht werden, Auszüge der Droge nach einer chromatographischen Methode aufzutrennen, und Stoffe mit unterschiedlichen Rf-Werten durch ihr Verhalten gegenüber dem H_2SO_4-Reagenz näher zu charakterisieren. Ein geeignetes chromatographisches Verfahren würde darüberhinaus ein gezieltes Vorgehen bei der nachfolgenden Isolierung der Substanzen ermöglichen.

Chromatographiert man den Aetherextrakt der Droge auf azetyliertem Papier mit einer 50%igen Mischung von n-Propanol und Wasser, so ergibt sich nach Behandlung der Chromatogramme mit konz.Schwefelsäure folgendes Bild (Abb.1).

In Höhe von Rf=0,3 wird ein Fleck sichtbar, der zunächst gelbbraun, dann jedoch violett tüpfelt. Ferner läßt sich bei Rf=0,5 deutlich ein zweiter Stoff erkennen, der eine anhaltende gelbbraune Tüpfelung zeigt.

Wir bezeichnen im folgenden die beiden Stoffe zunächst mit P (Rf=0,3) und A (Rf=0,5).

Auftrennungen auf anderen, nicht präparierten Papieren zeigten selbst bei Anwendung der verschiedensten Lösungsmittelgemische keine befriedigenden Ergebnisse. Bei Gebrauch lipophiler Systeme wanderten die Stoffe stets in der Lö-

sungsmittelfront. In hydrophilen Laufmitteln dagegen blieben die Verbindungen auf den Startpunkten zurück.

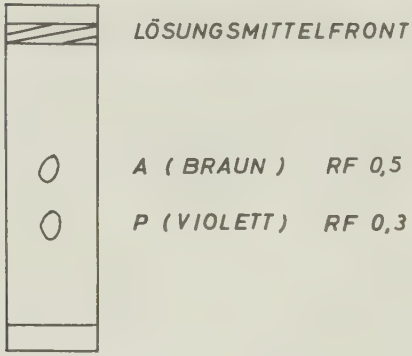


Abb. 1
Papierchromatogramm eines Aetherextraktes von P.guineense
Azetyliertes Papier d.Fa.SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 2043 B
n-Propanol:Wasser (1:1) 4 Stunden, aufsteigend.

2) Die Isolierung zweier schwefelsäurepositiver Inhaltsstoffe A und P.

Die papierchromatographischen Untersuchungen zeigten, daß es sich bei den Substanzen A und P offenbar um extrem lipophile Verbindungen handelt.

Orientierende Vorversuche ergaben, daß sich diese Stoffe leicht durch Aetherextraktion aus der Pflanze herauslösen ließen, wodurch zugleich eine Abtrennung von den mehr hydrophilen Drogeninhaltsstoffen erreicht werden konnte.

Der eingeengte, braunrote Aetherextrakt war durch den hohen Gehalt an Ölen, die aus der Droge mitextrahiert wurden, von visköser Beschaffenheit, zeigte aber bereits deutliche Neigung zur Kristallisation.

Diese Beobachtung ermutigte mich, nunmehr die Extraktion in größerem Maßstabe durchzuführen. Die grob pulverisierte Droge wurde im Soxhlet-Apparat in Anteilen zu je 300 g erschöpfend mit Aether extrahiert. Die vereinigten Extrakte aus 1800 g Droge wurden auf 500 ml eingeengt. Aus dieser Lösung hatten sich nach ca. 10 Tagen bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12°C 27,0 g eines stark verunreinigten Kristallbreies abgeschieden.

Durch Papierchromatographie wurde festgestellt, daß dieses Kristallisat im wesentlichen aus einem Gemisch der beiden Substanzen A und P bestand. Ich bezeichne im folgenden den Kristallbrei mit AP.

Versuche zur Auftrennung eines Teiles (5,0 g) dieses Substanzgemisches AP durch fraktionierte Kristallisation führten unter großen Verlusten schließlich zu einer kleinen Menge (ca. 800 mg) chromatographisch reiner Substanz P. Die Verbindung schmilzt bei 123°C [+]. Sie tüpfelt mit konz.

[+] Sämtliche Schmelzpunkte wurden als Mikroschmelzpunkte auf dem Heiztischmikroskop der Fa.LEITZ durchgeführt.

Schwefelsäure zunächst gelbbraun, dann violett.

Versuche, aus den Mutterlaugen die Substanz A zu gewinnen, waren erfolglos. Es war daher naheliegend, zur Auftrennung von AP in seine Hauptbestandteile A und P, eine moderne chromatographische Methode heranzuziehen. Die Unlöslichkeit der Substanzen in Wasser schließt von vornherein die Anwendung der Verteilungschromatographie aus. Für die Adsorptionschromatographie bot sich zunächst das für die Auftrennung lipophiler Substanzgemische bewährte Aluminiumoxyd an.

Ich stellte daher Voruntersuchungen mit verschiedenen Aktivitätsstufen der neutralen Aluminiumoxyde der Firmen MERCK und WOELM an. Die Aluminiumoxyde beider Firmen wurden in Anlehnung an die Vorschriften für die Einstellung der Aktivitätsstufen I-IV von Al_2O_3 WOELM mit den gleichen Anteilen Wasser versetzt. Jeweils gleiche Mengen des Rohkristallisates AP wurden in Aether zur Lösung gebracht und auf die mit den einzelnen Proben der Aluminiumoxyde beschickten Säulen aufgetragen. Die Chromatographie erfolgte im Durchlaufverfahren mit Aether als Elutionsmittel. Das im Extrakt enthaltene, die Substanzen A und P begleitende aetherische Öl trennte sich mit Al_2O_3 in seine Bestandteile auf, wodurch an den Säulen verschiedene Farbzonen hervorgerufen wurden. Die von mir gesuchten Substanzen sind jedoch farblos, weshalb ihr Verhalten an der Säule nicht ohne weiteres beobachtet werden kann. Durch laufende Überprüfung der Eluate mit dem H_2SO_4-Test konnte jedoch festgestellt werden, daß zwei verschieden tüpfelnde Fraktionen gut voneinander getrennt nur bei Verwendung von Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe II-III "MERCK" zu erhalten sind. Damit war der weitere Weg für die Isolierung von A und P vorgezeichnet.

10,0 g AP wurden in wenig Aether gelöst und auf eine Säule von Al_2O_3 "MERCK" II-III (350 g; h = 50 cm; Ø = 2,5 cm) aufgetragen und mit Aether eluiert. Die zunächst nach Farbzonen getrennt aufgefangenen Fraktionen wurden mit konz. Schwefelsäure getüpfelt, und soweit sie die für Substanz P charakteristische gelb-braune, dann violette Färbung zeigten, zu dem schließlich 1600 ml umfassenden Eluat I ver-

einigt. Weitere Elution mit 1200 ml Aether führte zu Eluat II, in dem sich nun Substanz A sowohl durch Tüpfelreaktion als auch papierchromatographisch nachweisen ließ. Die beiden Eluate I und II wurden getrennt auf je 20 ml eingeengt. Beim Abkühlen fielen spontan aus beiden Lösungen kristalline Substanzen aus, die jeweils aus Methanol mehrfach umkristallisiert wurden.

Die aus beiden Eluaten erhaltenen Kristalle wiesen überraschenderweise den gleichen Smp. von 123°C auf. Die papierchromatographische Untersuchung zeigte jedoch eindeutig, daß die aus Eluat I erhaltenen Kristalle (3,8 g) der Substanz P entsprachen, die Kristalle des Eluates II dagegen reine Substanz A (1,1 g) darstellten.

Ein Mischschmelzpunkt beider Substanzen ergab eine deutliche Depression um 15°. Auch das unterschiedliche Verhalten gegenüber konz. Schwefelsäure deutet darauf hin, daß es sich hierbei um zwei voneinander verschiedene Substanzen handelt. In Tabelle 1 werden die bisher festgestellten Eigenschaften der beiden Stoffe A und P noch einmal gegenübergestellt.

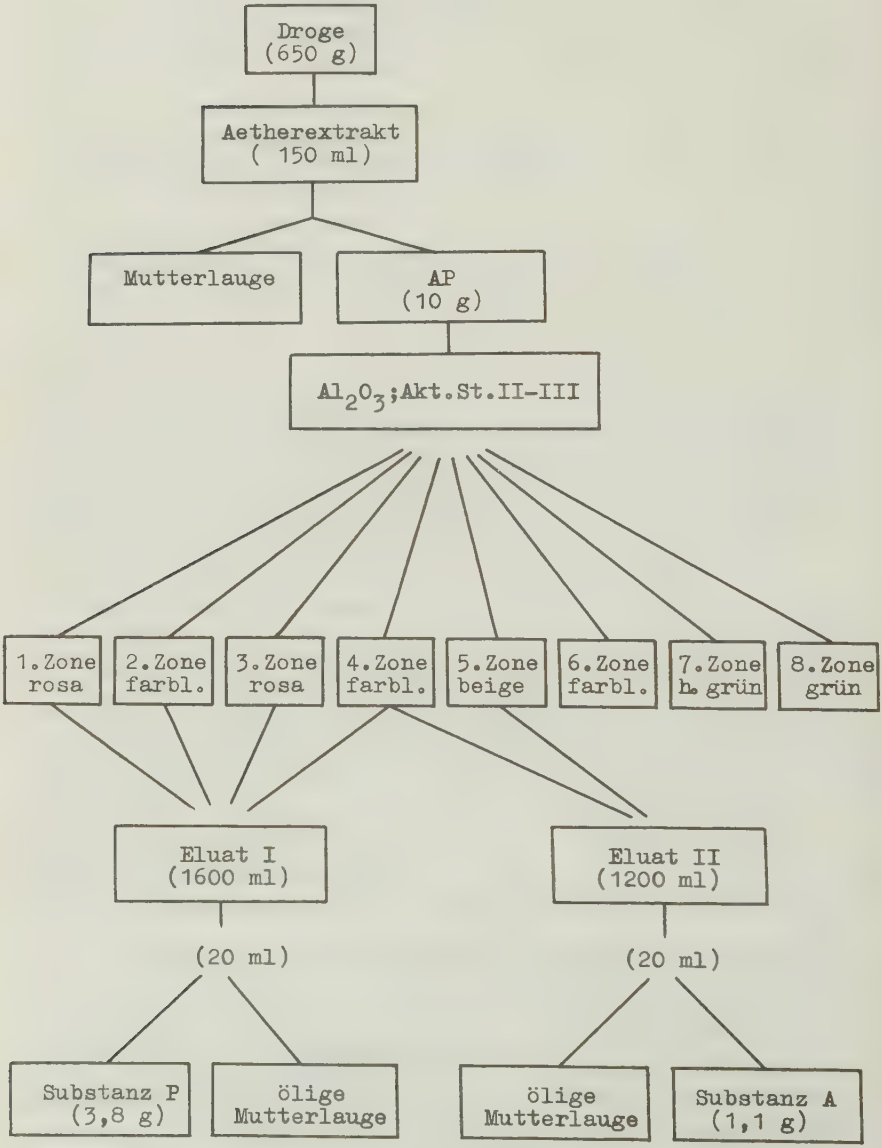
Tab. 1 Vorläufig festgestellte Eigenschaften der Substanzen A und P.

Substanz	Smp.	Smp.Depr. A+P	H_2SO_4-Tüpfelung	Rf +)
A	123°C	15°C	gelb-braun	0,52
P	123°C		gelb-braun, dann violett	0,32

+) Papier: SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 2043 b , azetyliert
n-Propanol:Wasser (1:1)

Die folgende Tabelle 2 zeigt schematisch den beschriebenen Arbeitsgang zur Isolierung der beiden schwefelsäurepositiven Substanzen A und P aus den Früchten von P.guineense.

Tab. 2 Schema zur Isolierung der beiden schwefelsäure-positiven Substanzen A und P aus den Früchten von P.guineense

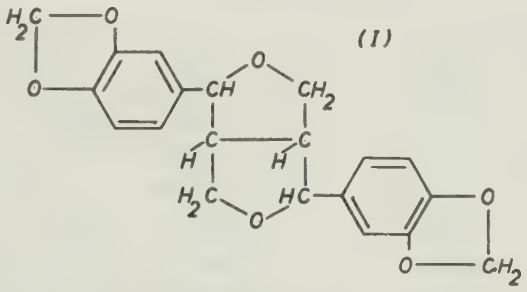


3) Die Identifizierung der Substanz P als Pseudocubebin = d-Sesamin

Substanz P zeigt im UV-Spektrum (Abb.2) maximale Absorption bei λ_1 208 mμ (E_{spez} 69,4); λ_2 237 mμ (E_{spez} 27,6); λ_3 287 mμ (E_{spez} 26,1).

Auf Grund der Tüpfelreaktion mit konz. Schwefelsäure und der auffallenden Ähnlichkeit des UV-Spektrums mit dem des Cubebins (Abb.3) ging ich für die Identifizierung von P von der Arbeitshypothese aus, daß es sich hier ebenfalls um einen Lignankörper handeln kann.(Siehe auch S.16 ff.)

Aus einer anderen Piperart, und zwar aus P.lowong BLUME isolierte PEINEMANN[36] im Jahre 1895 eine Substanz, die zur Verbindungsklasse der Lignane zu rechnen ist und die er als Pseudocubebin (I) bezeichnet.



(I)

(F.v.BRUCHHAUSEN, H.GERHARD)[10]
(B.CARNMALM, H.ERDTMAN, Z.PELCHOWICZ)[11]

Die für das Pseudocubebin beschriebenen Eigenschaften, wie Schmelzpunkt (123°C)[36], optische Drehung $[\alpha]_D^{22}$ = +60,0° [25] sowie die Reaktionen mit Schwefelsäure und Ammoniummolybdat-Schwefelsäure[36)25)] stimmen mit den Eigenschaften meiner Substanz P gut überein. CARNMALM[12] stellte die Identität des von HALBERKANN[25] aus Ocotea usambarensis ENGL. isolierten Pseudocubebins mit d-Sesamin fest. Um nun die von mir vermutete Identität meiner Substanz P mit Pseudocubebin = d-Sesamin zu beweisen, war ein Vergleich mit einer Probe authentischen Materials unerläßlich. Herr Prof.Dr.ERDTMAN,

Stockholm, war so freundlich, uns eine kleine Probe d-Sesamin zu überlassen.+)

Ein Mischschmelzpunkt dieser Substanz mit meiner Verbindung P gab keine Depression. Die UV-Spektren stimmten nach Lage und Höhe der Banden überein und auch die Tüpfelteste mit konz. Schwefelsäure und mit Ammoniummolybdat-Schwefelsäure führten zu den gleichen Farbreaktionen. Die Werte der spezifischen Drehungen beider Stoffe wichen voneinander nur wenig ab. Schließlich wurden von beiden Substanzen IR-Spektren aufgenommen (Abb.7), die völlige Übereinstimmung in Anzahl und Lage der Banden zeigten.(Siehe S.45)

Damit ist die Identität von Substanz P mit Pseudocubebin = d-Sesamin gesichert.(Tabelle 3)

Tab. 3 Übereinstimmende Eigenschaften von Substanz P und d-Sesamin

	Smp. °C	UV-Max. λ[mμ]	Rf++)	H_2SO_4-Reaktion	Opt.Drehung
Subst.P	123	208 237 287	0,32	braun, dann rot-violett	$[\alpha]_D^{20} = +58,6^\circ$ (in $CHCl_3$)
d-Sesamin	123	207 235 285	0,32	braun, dann rot-violett	$[\alpha]_D^{20} = +64,5^\circ$ (in $CHCl_3$)

++) Papier: SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 2043 b , azetyliert n-Propanol:Wasser (1:1)

+) Ich nehme die Gelegenheit wahr, für die Überlassung der Probe verbindlich zu danken.

Abb. 2

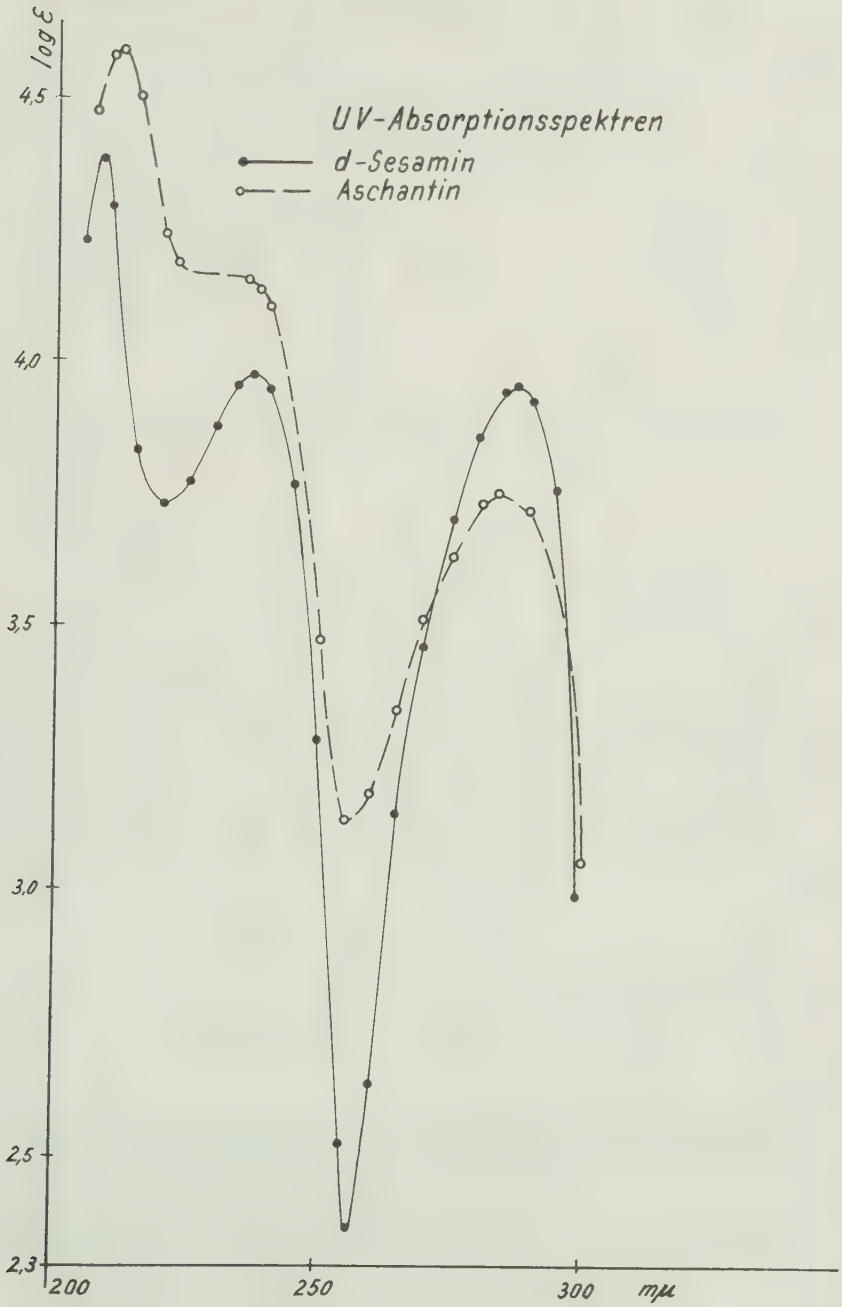
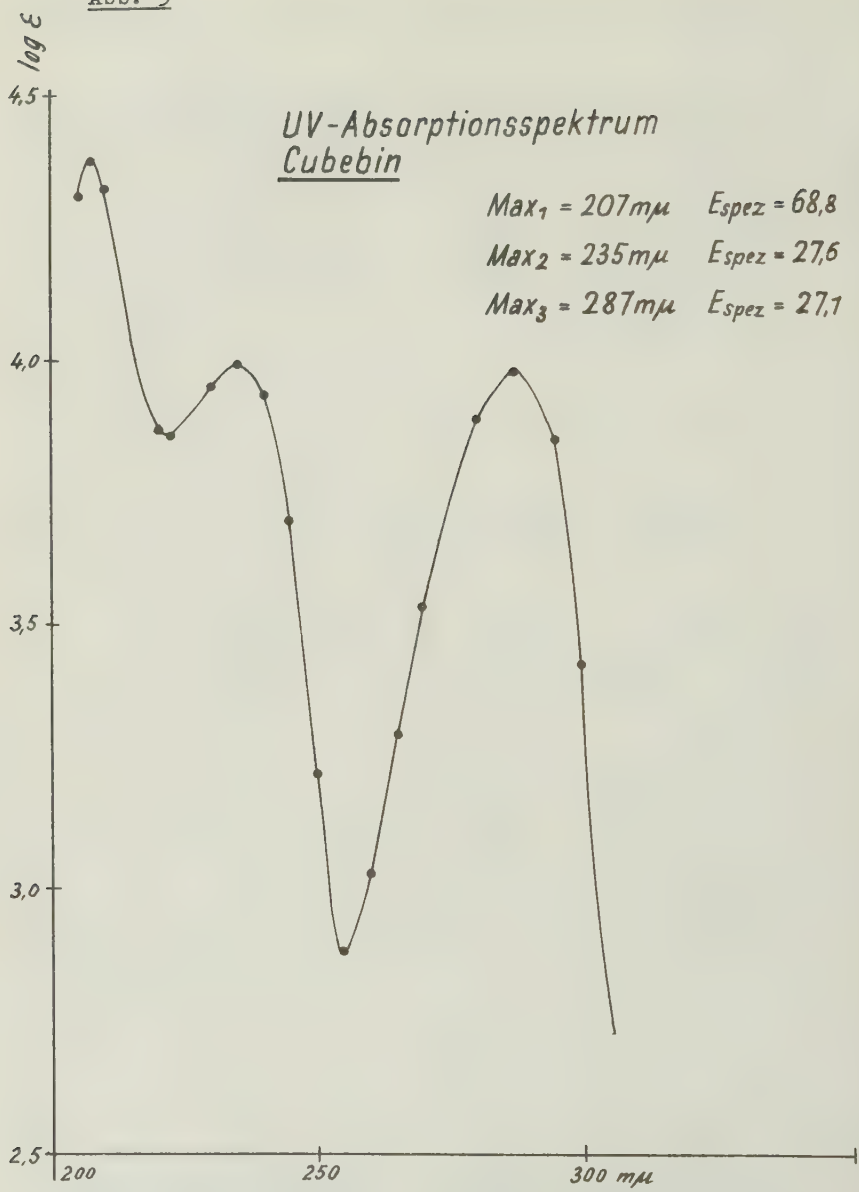

log ε
4,5
4,0
3,5
3,0
2,5
2,3
200
250
300
mμ
UV-Absorptionsspektren
d-Sesamin
Aschantin

Abb. 3


log ε
4,5
4,0
3,5
3,0
2,5
200
250
300 mμ
UV-Absorptionsspektrum
Cubebin
Max1 = 207mμ Espez = 68,8
Max2 = 235mμ Espez = 27,6
Max3 = 287mμ Espez = 27,1

4) Die Konstitution der Substanz A

Aus der Elementaranalyse[+)] von A in Verbindung mit der nach RAST durchgeführten Molekulargewichtsbestimmung[++)] läßt sich eine Bruttoformel von $C_{22}H_{24}O_7$ errechnen.

$C_{22}H_{24}O_7$, Mol.Gew. 400,41

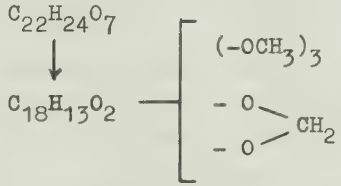
	gefunden				berechnet
C	66,10	65,80	66,15	66,57 %	65,99 %
H	6,19	5,90	6,28	6,18 %	6,04 %
O	27,97 %				27,97 %

Auf Grund der Methoxylbestimmung nach ZEISEL[22)] konnte auf die Anwesenheit von 3 Methoxylgruppen im Molekül geschlossen werden.

$C_{22}H_{24}O_7$, Mol.Gew. 400,41

gefunden $(-OCH_3)$ = 23,05 %
berechnet für $(-OCH_3)_3$ = 23,20 %

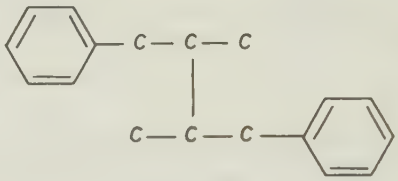
Zwei weitere Sauerstoffunktionen der Verbindung A konnten einer Dioxymethylengruppe zugeordnet werden, da sowohl nach der Reaktion von E.EEGRIWE[43)] und nach dem Gallussäuretest von L.H.BRIGGS und R.H.LOCKER[8)] das Vorhandensein wenigstens einer Dioxymethylengruppe im Molekül nachgewiesen wurde. Die Bruttoformel der isolierten Substanz A kann daher in folgender Weise aufgelöst werden:



+) Ich danke Herrn Dipl.Ing. J.HUBER, Leiter des Kontroll-Laboratoriums d. Fa. SCHERING AG., Berlin, für die Durchführung mehrerer Analysen.

++) ausgeführt vom Mikroanalyt.Laboratorium d.Fa. BERNHARDT, Mülheim/Ruhr, unter der Auftragsnummer: 20227/60

Offenbar besteht also das Grundgerüst unserer Verbindung A aus einem C_{18}-Körper. Die gleiche Anzahl von Kohlenstoffatomen finden sich nun in einer Gruppe von Pflanzeninhaltsstoffen, die als Lignane bezeichnet werden, und die man zunächst rein formal, seit den Untersuchungen von FREUDENBERG[21] auch biogenetisch, aus 2 Phenylpropankörpern, C_6C_3-Körpern, in folgender Weise entstanden denken kann:



Alle bisher bekannten Lignane sind durch ß-Verknüpfung der beiden Seitenketten aufgebaut.

Daß es sich bei der Substanz A nun ebenfalls um ein Lignan handeln könnte, ist auch aus phytochemischen Gründen denkbar: Substanz A ist Begleitstoff des Lignankörpers Pseudocubebin, dem es in mancher Weise ähnelt. Einmal stimmt das UV-Spektrum der Substanz A nach Lage und Höhe der Banden mit dem des Begleitlignans Pseudocubebin recht gut überein (Abb.2); es zeigt auch Übereinstimmung mit den in der Literatur für Lignane angegebenen UV-Spektren[+].

Pseudocubebin	$\lambda_{max.}$:	208 mμ	$E_{spez.}$ 69,4
		237 mμ	$E_{spez.}$ 27,6
		287 mμ	$E_{spez.}$ 26,1
Substanz A	$\lambda_{max.}$:	212 mμ	$E_{spez.}$ 99,5
		284 mμ	$E_{spez.}$ 14,7
		224 mμ	$E_{spez.}$ 38,4 (Inflexion)

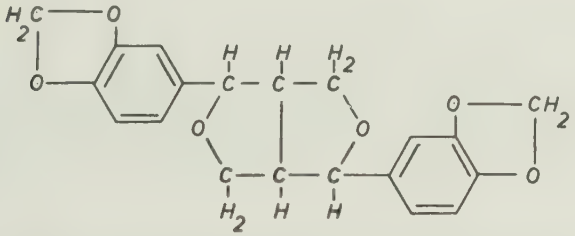
Ferner zeigen Pseudocubebin und Substanz A ein sehr ähnliches Verhalten gegenüber konz. Schwefelsäure. Beide Substan-

---

[+] Zusammenfassende Übersicht bei ERDTMAN in "Moderne Methoden der Pflanzenanalyse"(PAECH-TRACEY),Springer-Verlag 1955,Band III,S.428

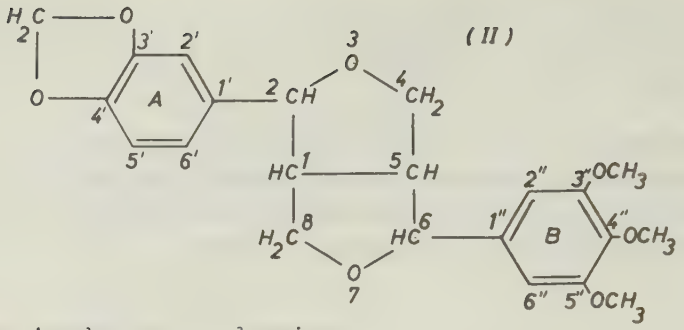
zen tüpfeln zunächst gelbbraun, und erst nach einigen Minuten kann das nun schmutzig-violett tüpfelnde Pseudocubebin von dem schließlich grünbraun tüpfelnden Stoff A unterschieden werden.

Die chemische Verwandtschaft der Substanz A zu deren Begleitstoff Pseudocubebin scheint darüberhinaus auch durch die gleichartige, nämlich aetherartige Verknüpfung der beiden Phenylpropaneinheiten gegeben zu sein.



Aetherartige Verknüpfung der beiden Phenylpropankörper zum Tetrahydrofurofuran-Typ der Lignane am Beispiel des Pseudocubebins (d-Sesamin)

Wie oben angegeben wurde, konnten bei der Verbindung A bis auf zwei O-Atome alle anderen Sauerstoffe funktionellen Gruppen zugeordnet werden. Diese beiden Sauerstoffatome müssen als Aethersauerstoff vorliegen. Azetylierungsversuche ergaben nämlich das unveränderte Ausgangsmaterial. Ferner zeigten IR-Spektren keinen Anhaltspunkt für das Vorliegen eines Aldehyds, Ketons oder eines esterartig gebundenen Sauerstoffs. IR-Spektren ließen jedoch eindeutig die für Aetherbindungen charakteristischen Banden (siehe Diskussion der IR-Spektren S.46) erkennen, die allerdings auch den Methoxylgruppen der Substanz A zugeordnet werden können. Auf Grund dieser Überlegung gelangten wir zu der Arbeitshypothese, daß unserer Verbindung A folgende Konstitution zukommen könnte (II):

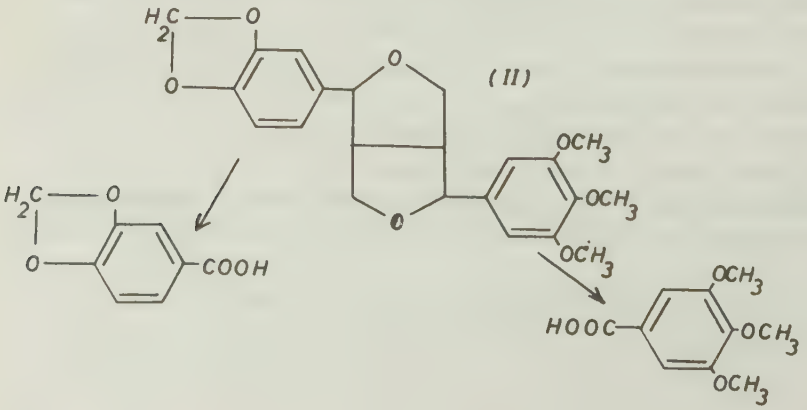


Diese Annahme war zu beweisen.

Es galt einmal, die Seitenphenyle durch entsprechende Abbaureaktionen zu fassen, zum anderen die Identität des Dioxabicyclo-oktan-Mittelstückes mit dem des Pseudocubebins zu sichern.

PEINEMANN[36] und ERDTMAN[16] u.a. verwendeten für den Abbau von Pseudocubebin bzw. Pinoresinoldimethylaether die Permanganatoxydation, wobei PEINEMANN aus Pseudocubebin die Piperonylsäure, ERDTMAN aus Pinoresinoldimethylaether die Veratrumsäure erhielten.

Ein Modellversuch mit Pseudocubebin, das von mir mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung (vgl.Versuchsteil D 7d) abgebaut wurde, lieferte in sehr geringer Menge Piperonylsäure. Entsprechend unserer Arbeitshypothese sollten beim Abbau der Substanz A (II) sowohl Piperonyl- als auch 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure entstehen.

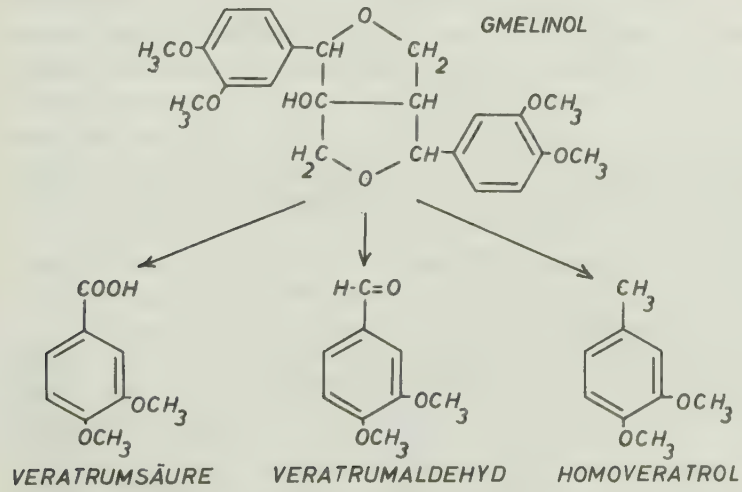


Der Hauptversuch mit Substanz A lieferte wenige mg 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure, die durch Mischschmelzpunkt und auf papierchromatographischem Wege einwandfrei identifiziert wurde. Die Piperonylsäure war dagegen nicht nachzuweisen. Es mußte daher überprüft werden, ob die Oxydation mit Kaliumpermanganat unter den gewählten Bedingungen den Nachweis von Piperonylsäure neben 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure beeinträchtigt.

Aus diesem Grunde wurde ein Gemisch beider Säuren unter gleichen Bedingungen der Permanganatoxydation unterworfen und wie im Falle des Abbaues von Pseudocubebin weiter aufgearbeitet. Es konnten hiernach weder Piperonyl- noch 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure nachgewiesen werden. So ist die Permanganatoxydation offenbar für die vorliegende Verbindung nicht anwendbar.

Auf der Suche nach geeigneteren Methoden stieß ich auf ein Verfahren, daß A.J.BIRCH und F.LIONS[5] für den Abbau von Gmelinol angeben und das auf einer Pyrolyse der Substanz beruht.

Das Gmelinolmolekül wurde durch Erhitzen bei Atmosphärendruck zerstört; als Spaltprodukte konnten die genannten Autoren Veratrumsäure, Veratrumaldehyd und Homoveratrol nachweisen.



Es wurde daraufhin als Modellversuch zunächst Pseudocubebin der Pyrolyse unterworfen. Ich erhitzte die Substanz in einem Sublimationsblock langsam auf 290°C. Von 230°C an begann sich in zunehmendem Maße ein kristallines Sublimat abzuscheiden, das papierchromatographisch als Piperonylsäure identifiziert wurde.

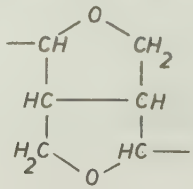
Im Hauptversuch wurde Substanz A ebenfalls durch Pyrolyse zerstört und lieferte, papierchromatographisch nachgewiesen, Piperonylsäure neben zwei Substanzen, die nicht näher untersucht wurden.

Ich habe damit aus Substanz A auf verschiedene Weise einmal Piperonyl-, zum anderen 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure als Spaltprodukte erhalten. Es ist damit als bewiesen anzusehen, daß Ring A eine Dioxymethylengruppe, Ring B drei Methoxylgruppen als Substituenten trägt.

Ein Versuch, durch Abbau mit Salpetersäure nach ERDTMAN[16] (siehe auch Versuchsteil D 9a,b) zu den nitrierten Phenolderivaten zu gelangen, konnte zwar im Falle des Pseudocubebins reproduziert werden, es gelang aber nicht, in analoger Weise mit Substanz A zu kristallisierbaren Abbauprodukten zu gelangen.

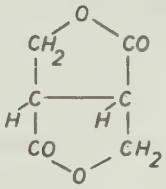
Nach HALBERKANN[25] sollten sich Pseudocubebin und verwandte Substanzen durch Alkalischmelze zu Phenolen abbauen lassen. Trotz Modifizierung der Versuchsbedingungen (Alkalischmelze, Alkaliabbau mit 50%iger KOH) erhielt ich kein phenolisches Abbauprodukt; u.zw. weder im Falle der Modellsubstanz Pseudocubebin, noch im Falle der Substanz A. Ähnliches beobachtete beim Pseudocubebin schon PEINEMANN[36].

Zur endgültigen Beweisführung von (II) galt es, den die Seitenphenyle verbindenden Teil des Moleküles als einen Dioxabicyclo-oktan-Körper (III) zu identifizieren.



(III)

ERDTMAN und GRIPENBERG[18] gelang die Herausspaltung des "Mittelstückes" des Pinoresinols, indem sie Dibrompinoresinoldimethylaether unter scharfen Bedingungen mit Salpetersäure behandelten. Sie erreichten eine vollständige Spaltung des Moleküls und gelangten zu einem kristallisierenden Dilacton-Körper (IV), den sie näher charakterisieren konnten.

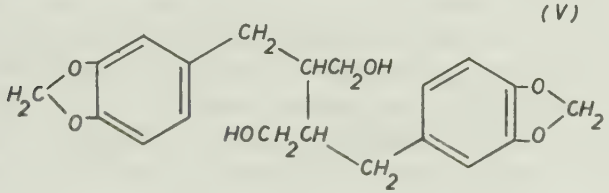


(IV)

Auf Grund der schlechten Erfahrungen, die ich beim Abbau von Substanz A mit Salpetersäure bereits gesammelt hatte, suchte ich nach einer weiteren Methode zum Beweis des Vorliegens der Dioxabicyclo-oktan-Struktur des "Mittelstückes" in Substanz A.

v.BRUCHHAUSEN und GERHARD[10] öffneten die Tetrahydrofuranringe des d-Sesamin durch katalytische Hydrierung über Palladium-Kohle und gelangten dabei zu einem kristallinen Diol (V) vom Smp.103°C.

(V)



Die Methode wurde an dem von mir isolierten Pseudocubebin unter geringfügigen Abänderungen (s.Versuchsteil D 11 b) nachgearbeitet und lieferte ebenfalls farblose Kristalldrusen vom Smp.103°C. Die optische Drehung der Substanz wurde bestimmt mit $[\alpha]_D^{20} = -35{,}8^\circ$ ($CHCl_3$).

Ich übertrug daraufhin diese Methode der Aufspaltung zum Diol - nach Art der Benzylaetherspaltung - auf Substanz A. Nach kurzer Zeit mußte ich jedoch auf Grund des H_2-Verbrau-

ches feststellen, daß die Aufspaltung der Tetrahydrofuranringe im Substanz A-Molekül nicht so leicht erfolgte, wie es nach dem Modellversuch mit Pseudocubebin zu erwarten gewesen wäre. Am Beispiel des Pinoresinoldimethylaethers beschrieben nun HAWORTH und WOODCOCK[28] eine ähnliche Erscheinung. Sie mußten diese Verbindung insgesamt 12 Stunden - unter mehrmaliger Erneuerung des Katalysators - hydrieren, um die Aufspaltung des wie im Pseudocubebinmolekül vorliegenden Dioxabicyclo-oktan-Ringes zum Diol zu erreichen.

I. Pseudocubebin $\xrightarrow[\text{Pd-Kohle}]{H_2}$ Aufspaltung zum Diol nach Art der Benzylaetherspaltung gelingt glatt. Diol Smp.103°C (v.BRUCHHAUSEN u. GERHARD)[10]

II. Pinoresinol-dimethylaether $\xrightarrow[\text{Pd-Kohle}]{H_2}$ Aufspaltung zum Diol nach Art der Benzylaetherspaltung ist im Verhältnis zu I. gehemmt. Diol Smp.121-122°C (HAWORTH u. WOODCOCK)[28]

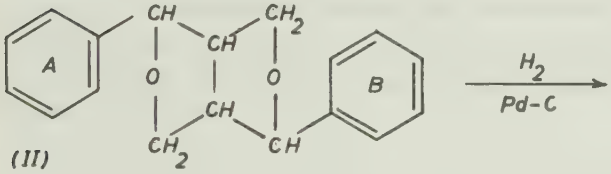
Da sich Pinoresinoldimethylaether und Pseudocubebin lediglich in ihren peripheren Substituenten unterscheiden, liegt der Schluß nahe, daß die Methoxygruppen einen hemmenden Einfluß auf den Verlauf der Diolspaltung ausüben. Für meine Substanz A war eine Trimethoxygruppierung für einen der Seitenphenyle bewiesen worden; es wurde vermutet, daß sich Substanz A bei der katalytischen Hydrierung dem Verhalten des Pinoresinoldimethylaethers ähnlicher zeigt als dem des Pseudocubebins. Aus diesem Grunde hydrierte ich A in Anlehnung an die von HAWORTH und WOODCOCK[28] für die Aufspaltung von Pinoresinoldimethylaether beschriebene Methode.

Die Lösung von 1,0 g Substanz A wurde in Eisessig nach Zugabe von 1,0 g Palladiumkatalysator bei 18°C in der Schüttelente insgesamt 28 Stunden lang hydriert. Während dieser Zeit wurde der Katalysator zweimal erneuert, nachdem ich beobachtet hatte, daß er allmählich inaktiviert wurde und

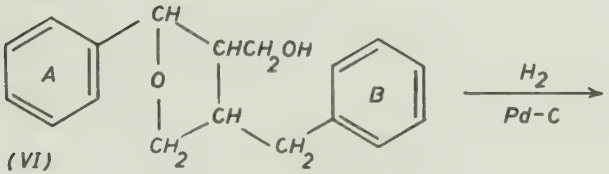
daß nach Neuzugabe ein erhöhter H_2-Verbrauch stattfand. Die Verbindung nahm in dieser Zeit insgesamt 117 cm^3 H_2 auf; das sind berechnet für die eingesetzte Menge A etwas weniger als 2 Mol Wasserstoff.

Die Aufarbeitung des Reaktionsproduktes nach D 11 b) des Versuchsteiles führte zu einem gelblichen, sirupartigen Stoff (0,7 g), der nicht zur Kristallisation zu bringen war.

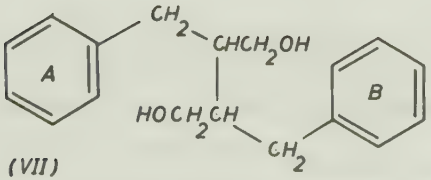
Es lag daher der Verdacht nahe, daß A (Formel II) nicht quantitativ zu einem Diol aufgespalten wurde und daß die erhaltene sirupöse Masse vielmehr aus einem Gemisch eines Monols (VI) und Diols (VII) bestand.



(II)



(VI)

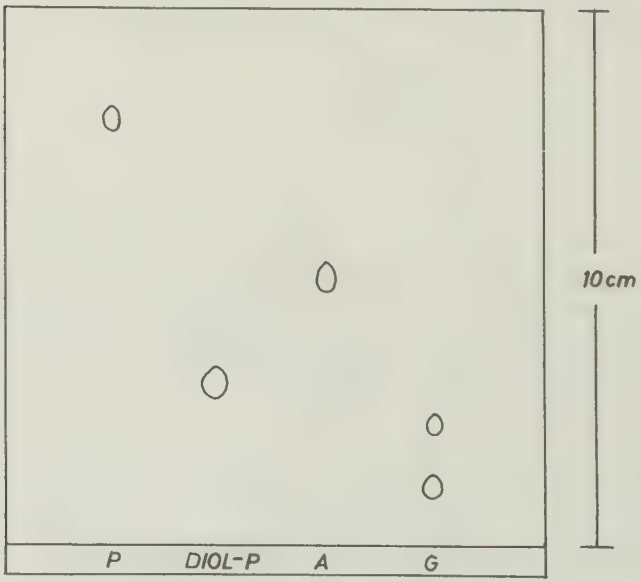


(VII)

Es mußte daher zunächst nach einem Verfahren gesucht werden, das eine Prüfung des Hydrierungsproduktes auf Einheitlichkeit ermöglichte. Ich verwendete hierfür die dünnschichtchromatographische Methode nach E.STAHL[37-40]. Als Trägermaterial dienten mir Glasplatten, die mit einer 275µ dicken Schicht von Kieselgel G"MERCK" mit einem geringen Zusatz an Fluorescein präpariert waren. Die Zugabe von Fluorescein erfolgte, um die Flecken durch Fluoreszenzlöschung sichtbar zu machen, da sie auf nicht präparierten Platten auch im UV-Licht nicht nachweisbar sind. Als Elutionsmittel wurde eine Mischung von Cyclohexan und Essigester (3:2) gewählt.

Abb. 4

Dünnschichtchromatogramme von A und Pseudocubebin und der Hydrierungsprodukte beider Substanzen



Cyclohexan:Essigester (3:2) 45 Minuten

P = Pseudocubebin	Rf = 0,78
Diol P = Hydriertes Pseudocubebin	Rf = 0,29
A = Substanz A	Rf = 0,49
G = Hydrierte Substanz A	Rf = 0,10
	Rf = 0,21

Die Chromatogramme (Abb.4) bestätigten, daß die Hydrierung von Pseudocubebin im Modellversuch zu einem einheitlichen Diol führte. Die Chromatographie des Hydrierungsproduktes von A zeigte dagegen zwei Flecken bei Rf=0,1 und Rf=0,21.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie konnte ich feststellen, daß sich das Größenverhältnis der Flecken von Rf=0,1 zu Rf=0,21 bei längerer Hydrierungsdauer zugunsten des Fleckes Rf= 0,1 verschob. Daraus war zu entnehmen, daß es sich bei Rf=0,1 mit großer Wahrscheinlichkeit um das gesuchte Diol handelte. Vollständig rein konnte jedoch dieser Alkohol auf dem Wege der Hydrierung nicht erhalten werden. Da auch eine chromatographische Auftrennung an Al_2O_3-Säulen mißlang, scheute ich davor zurück, mit dem nicht einheitlichen Hydrierungsprodukt, Monol-Diol-Gemisch G, die Bestimmung des aktiven Wasserstoffs durchzuführen, die von v.BRUCHHAUSEN und GERHARD[10] für die Charakterisierung des Mittelstückes angewandt wurde.

Vielmehr versuchte ich auf dem Wege der Azetylierung und durch Bestimmung des gebundenen Azetyls den Gehalt an freien OH-Gruppen zu ermitteln. Das für die Azetylierung eingesetzte Monol-Diol-Gemisch G wurde, wie im Versuchsteil nach D 11 b) beschrieben, durch Aetherausschüttelung aus einer wässrigen Reaktionslösung erhalten. Diese Art der Aufbereitung hatte den Nachteil, daß sich das lipophilere Monol stärker in der aetherischen Phase anreicherte als das hydrophilere Diol. Es konnte also bestenfalls nur erwartet werden, daß die Azetylbestimmung Werte ergibt, die höher liegen, als sie für eine Azetylgruppe pro Molekül errechnet wurden. In der Tat zeigte die quantitative Bestimmung einen Gehalt von 11,71 % CH_3CO gegenüber einem für eine Azetylgruppe berechneten Wert von 9,67 %. Wird berücksichtigt, daß die Verbindung A als solche nicht azetylierbar ist, kann somit indirekt auf das Vorliegen des Dioxabicyclo-oktan-Mittelstückes geschlossen werden.

Zusammenfassend darf daher zur katalytischen Hydrierung der Verbindung A gesagt werden: Die Aufspaltung des Dioxabicyclo-oktan-Mittelstückes der Substanz A zum Diol durch kata-

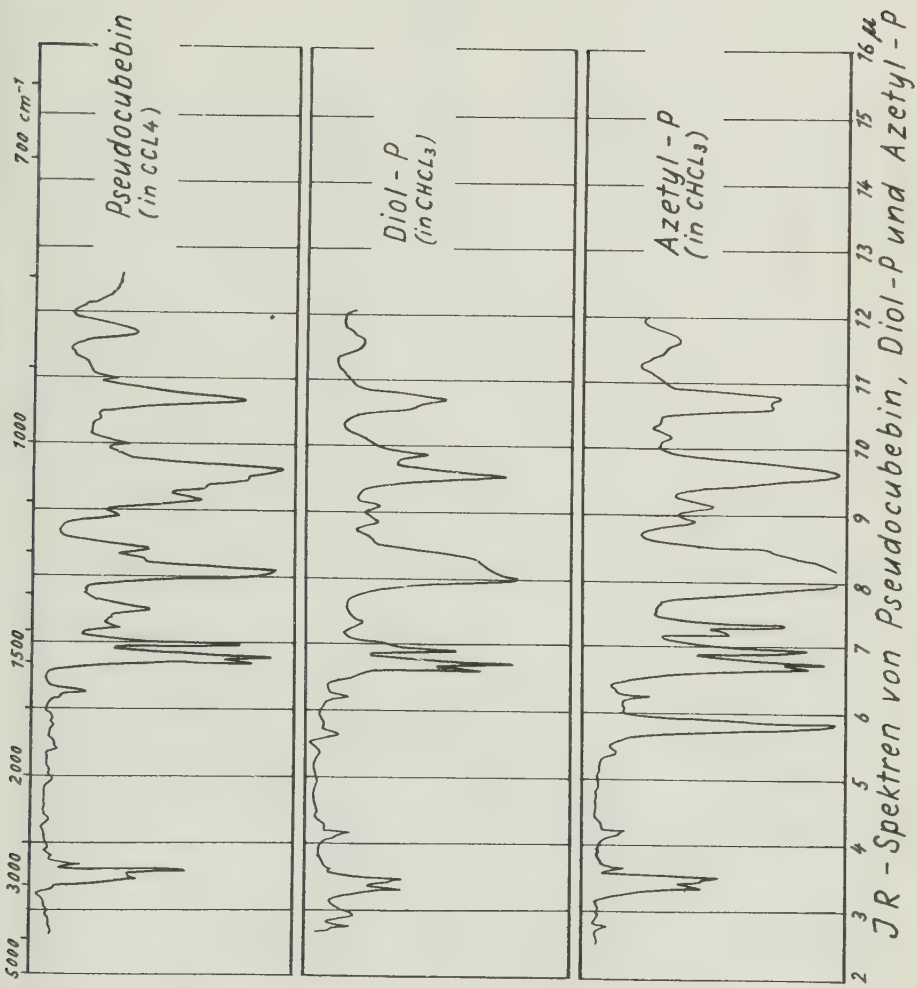
lytische Hydrierung ist im Verhältnis zu dem analogen Vorgang bei Pseudocubebin sehr stark gehemmt. Wir erhalten beim Abbau der Modellsubstanz Pseudocubebin ein kristallines Diol vom Smp.103°C, Diol P genannt, während Substanz A ein nicht kristallisierendes sog. Monol-Diol-Gemisch G liefert. Zur Bestimmung der alkoholischen OH-Gruppen wurden Diol P zum Azetyl-P und Monol-Diol-Gemisch G zu Azetyl-G azetyliert. Die Auswertungen der Azetylbestimmungen ergaben, wie erwartet, für Azetyl-G einen Wert, der zwischen denen für eine und zwei Azetylgruppen pro Molekül berechneten lag.

Diese Aussagen werden sehr anschaulich bestätigt durch einen Vergleich der IR-Spektren von Pseudocubebin und Substanz A mit denen ihrer Hydrierungsprodukte und deren Azetylderivaten.(Vgl.Abb.5 u.6) Sowohl im Falle des Pseudocubebins(Abb.5) als auch bei Verbindung A (Abb.6) zeigen die IR-Spektren der Hydrierungsprodukte (Diol P und Monol-Diol-Gemisch G) bei 3600 cm^{-1} charakteristische OH-Banden. Diese fehlen jedoch wieder in den Spektren der azetylierten Alkohole (Azetyl-P und Azetyl-G), die nun bei 1730 cm^{-1} charakteristische Carbonylbanden zeigen. Die unterschiedlich starke Ausbildung der Carbonylbanden von Azetyl-P und Azetyl-G bestätigt unsere Vermutung, daß vom Pseudocubebin ein reines Diol, von Substanz A jedoch nur ein Monol-Diol-Gemisch zur Azetylierung gelangten.

Auf Grund aller mit der Verbindung A durchgeführten Untersuchungen kommen wir somit zu dem Schluß, daß Substanz A die Konstitution eines (+)2-(3',4'-Methylendioxyphenyl)-6-(3",4",5"-Trimethoxyphenyl)-3,7-Dioxabicyclo-[3,3,0]-oktan[+)] aufweist. Eine derartige Verbindung ist in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden. Da sie aus einer Droge isoliert wurde, die auch unter der Bezeichnung Aschantipfeffer gehandelt wird, möchte ich für die Verbindung den Namen A s c h a n t i n vorschlagen.

+) Für die Kennzeichnung der optischen Aktivität des Aschantins wurde gemäß den neuesten Nomenklaturregeln (+) gewählt, während für die Drehung des Sesamins die traditionelle Bezeichnung "d" beibehalten wurde, ein Verfahren, wie es bis in die neueste Zeit gehandhabt wird.

Abb. 5



IR-Spektren von Pseudocubebin, Diol-P und Azetyl-P

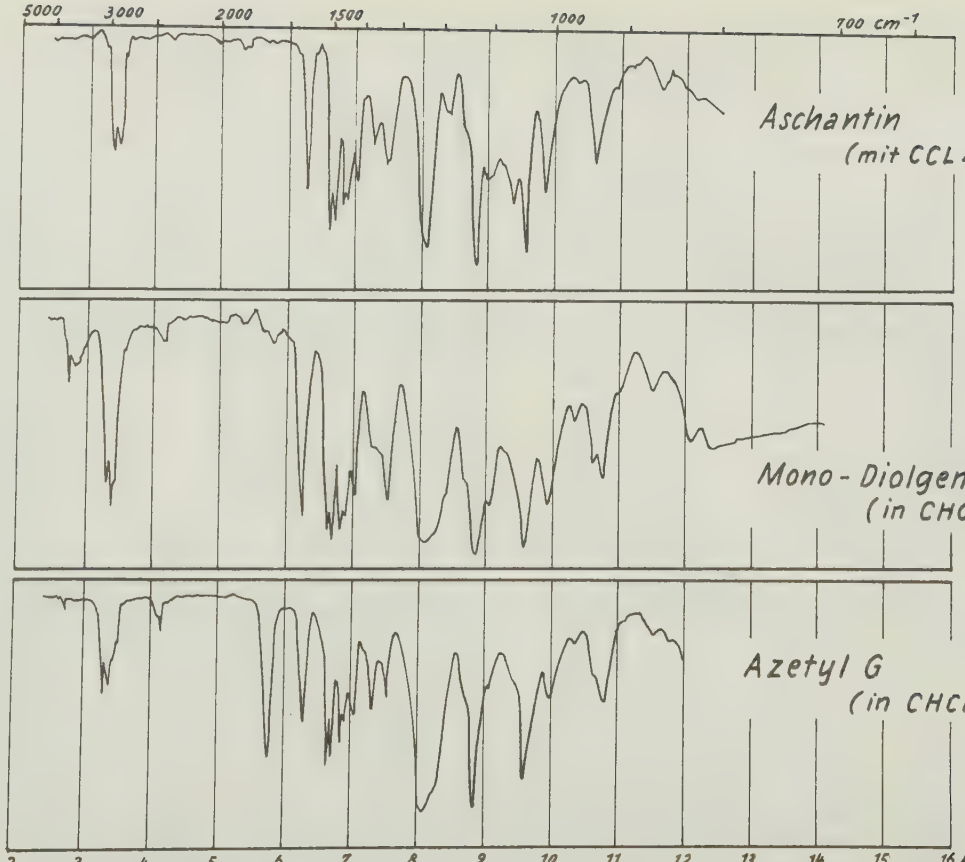
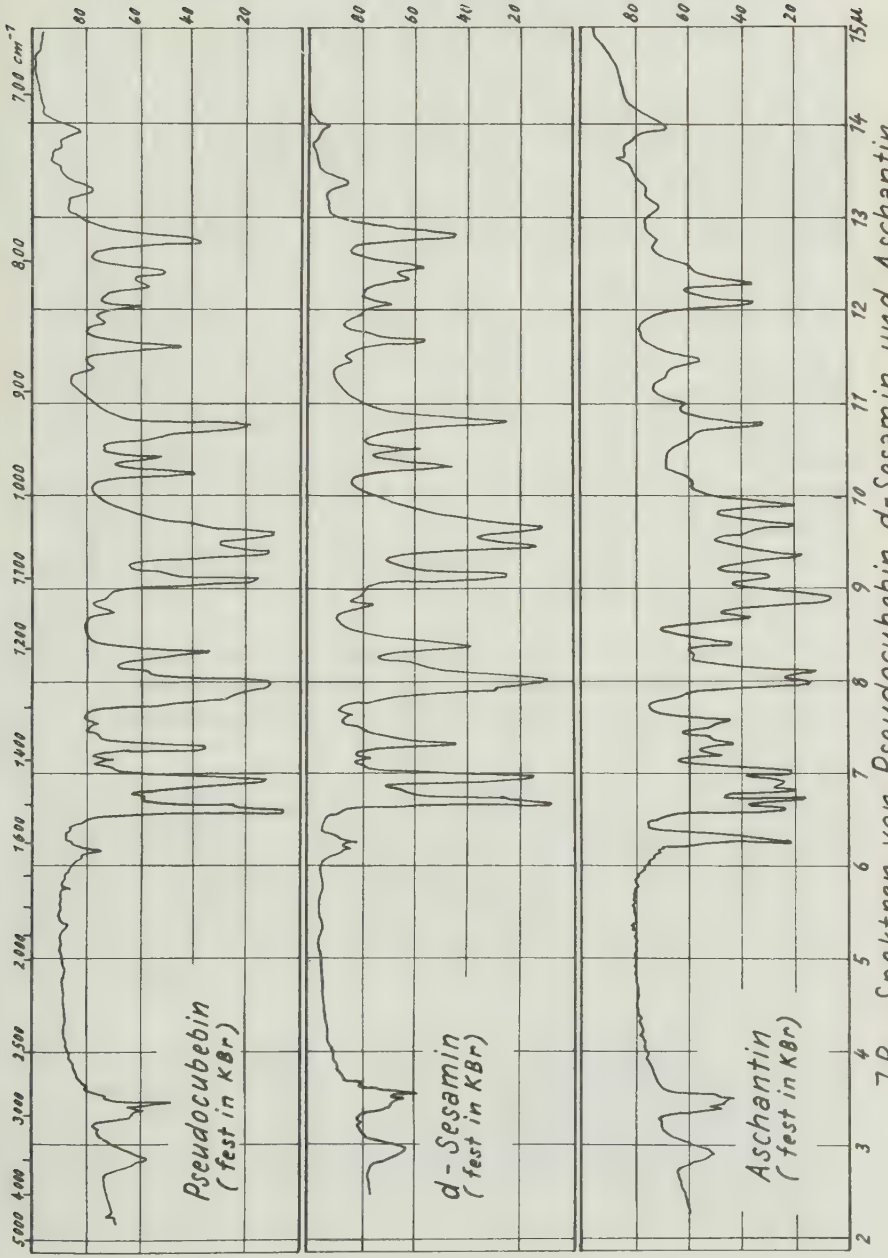


Abb. 6

IR-Spektren von Aschantin, Mono-Diolgemisch G und Azetyl G

Abb. 7



IR-Spektren von Pseudocubebin, d-Sesamin und Aschantin

Diskussion der IR-Absorptionsspektren von Pseudocubebin und Aschantin.

Ein Vergleich der IR-Absorptionsspektren des Pseudocubebins (I) und des Aschantins (II) sollte die Ergebnisse der chemisch geführten Konstitutionsermittlung für Aschantin bekräftigen. Die Spektren wurden in KBr mit einem LEITZ-IR-Spektralphotometer (Abb.7) und in Tetrachlorkohlenstoff mit einem BECKMAN-IR 5-Photometer (Abb.5 u.6) aufgenommen[+].

Es war von vornherein zu erwarten, daß beide Spektren weitgehende Ähnlichkeit miteinander erkennen lassen, denn beide Substanzen weisen das gleiche Grundgerüst auf, und beide Verbindungen enthalten an Aromaten gebundene Dioxymethylengruppen. Der Unterschied zwischen beiden Substanzen besteht lediglich darin, daß einer der beiden für Pseudocubebin charakteristischen Piperonylreste beim Aschantin durch einen 3,4,5-Trimethoxybenzoylrest ersetzt ist. Alle Abweichungen in den Spektren mußten sich folglich nun auf dieses Seitenphenyl zurückführen lassen.

Das IR-Spektrum von Aschantin läßt bei 1590 cm^{-1} eine stark ausgeprägte Bande erkennen, die bei Pseudocubebin fehlt. Dagegen zeigt sich im Spektrum des Pseudocubebins eine

---

[+] Es sei mir gestattet, Herrn Professor Dr.LAUTSCH, Direktor des Institutes für Organische Chemie der Freien Universität Berlin und Herrn Professor Dr.BOHLMANN, Vorstand des Institutes für Organische Chemie der Technischen Universität Berlin, für die Erlaubnis zu danken, die erforderlichen Messungen in ihren Instituten durchführen zu dürfen.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Dr.GNICHTEL vom Org.-Chem.Institut der FU Berlin, sowie Herrn Dr.WINTERFELDT und Herrn Dipl.-Chem.ARNDT vom Org.-Chem.Institut der TU Berlin für wertvolle Anregungen zur Diskussion der Spektren.

schwache Bande bei 1605 cm^{-1}, deren Anwesenheit auch im Spektrum des Aschantins nicht ausgeschlossen werden kann, da sie durch die neuauftretende, wesentlich intensivere Bande bei 1590 cm^{-1} beeinträchtigt wird.

Nach COLTHUP[14] weisen in dem Frequenzbereich 1600 cm^{-1} vorwiegend Aromaten Absorptionsbanden auf, die in den meisten Fällen jedoch nur schwach ausgeprägt sind. Oft kann die Lage der Bande Aufschluß über den Substitutionstyp des Aromaten geben. Die 1590 cm^{-1} Bande muß daher als dem 1,2,3,5-substituierten Aromaten zugehörig gedeutet werden, was durch einen Vergleich mit dem IR-Spektrum der 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure auch bestätigt wird. (Abb.8)

Anhaltspunkte für die Differenzierung der Dioxymethylen- und Methoxylgruppen liefern die vergleichenden Untersuchungen von BRIGGS und Mitarbeitern[9]. Danach können die in beiden Spektren bei 1485, 1390, 1370, 1250, 1130, 1035, 930 und 717 cm^{-1} aufgetretenen Banden als der Methylendioxygruppe zugehörig gedeutet werden. Im Frequenzbereich um 3000 cm^{-1} lassen sich die Banden allerdings wegen des geringen Auflösungsvermögens der verwendeten NaCl-Prismen nicht eindeutig zuordnen, sodaß eine für Methylendioxygruppen besonders charakteristische Bande zwischen 2770 und 2800 cm^{-1} verloren geht. Die Bande bei 930 cm^{-1} läßt sich in beiden Spektren gut erkennen. Da beide Substanzen in annähernd gleichen Konzentrationen gemessen wurden, kann aus der Extinktion der Bande auf einen höheren Gehalt von Dioxymethylengruppen beim Pseudocubebin gegenüber dem Aschantin geschlossen werden.

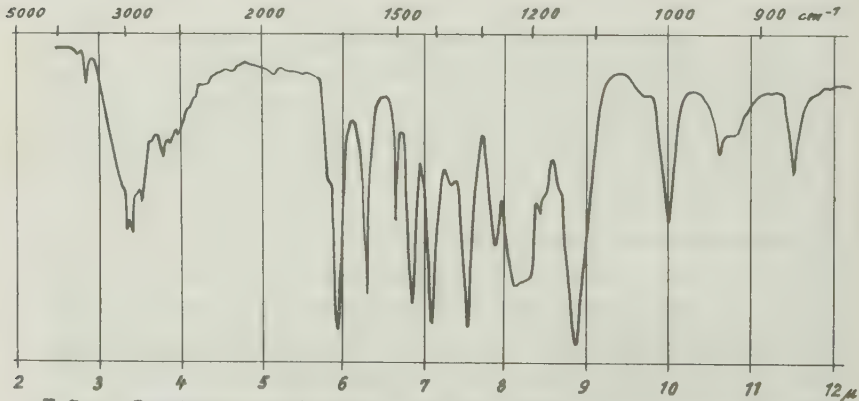
Im Vergleich zum Pseudocubebin fällt auf, daß Aschantin bei 2850 cm^{-1} eine deutlich ausgeprägte Bande aufweist. Diese Bande ist nach BRIGGS und Mitarbeitern neben der bei 1465 cm^{-1} aufgetretenen von besonderer diagnostischer Bedeutung für das Vorliegen von Methoxylgruppen neben Dioxymethylengruppen und bezieht sich speziell auf die Methylgruppe. Die weiteren für OCH_3-Gruppen kennzeichnenden und in oben erwähnter Arbeit genannten Banden bei 1320, 1250,

1190, 1130 und 1100 cm^{-1} sind von geringerem analytischen Wert, da sie entweder auch von Methylendioxygruppen gegeben werden oder Aetherschwingungen darstellen, die vom Molekülbau her ohnehin erwartet werden mußten.

Auffällig ist allerdings, daß im Aschantin-Spektrum im Frequenzbereich zwischen 1050 und 1000 cm^{-1} eine zusätzliche starke Bande bei 1010 cm^{-1} auftritt, die nach ihrer Lage gleichfalls als Aetherbande gedeutet werden kann, dem Pseudocubebin jedoch fehlt. Da diese Bande als einzige Aetherbande im Frequenzbereich um 1000 cm^{-1} in der 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure (Abb.8) auftritt, darf geschlossen werden, daß ihr zusätzliches Vorkommen im Aschantin der Gruppierung der Methoxylgruppen in der 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure entspricht.

Abschließend darf gesagt werden, daß die vergleichende Diskussion der IR-Spektren von Aschantin und Pseudocubebin zu Ergebnissen führte, die die Richtigkeit der chemisch geführten Konstitutionsermittlung bestätigten.

Abb. 8



IR - Spektrum der 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure (in $CHCl_3$)

5) Zur Analytik der Piperaceenlignane

Tüpfelreaktionen sind als chemisch-analytische Hilfsmittel zur Identifizierung von Drogen von besonderer Bedeutung. Über die Anwendung einer derartigen Reaktion zur Unterscheidung der Kubeben und ihrer Verfälschungen wurde einleitend und im allgemeinen pharmakognostischen Teil dieser Arbeit (Seite 14) bereits das Wesentliche gesagt.

An Inhaltsstoffen, die für eine Tüpfelreaktion mit konz. Schwefelsäure verantwortlich sind, kommen bei den Piperaceenfrüchten Cubebin, Pseudocubebin und Piperin sowie das von mir erstmalig isolierte Aschantin in Frage. Die Eigenschaften dieser Substanzen sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tab. 4 Eigenschaften von Pseudocubebin und Aschantin im Vergleich zu Cubebin und Piperin

	Pseudocubebin	Aschantin	Cubebin	Piperin
Smp.	123°C	123°C	129°C	129°C
Optische Drehung	$[\alpha]_D^{20}$ = +58,6° ($CHCl_3$)	$[\alpha]_D^{20}$ = +55,2° ($CHCl_3$)	$[\alpha]_D^{20}$ = -17,9° (Aceton)	—
UV-Spektrum λ(Max.) mμ	208 237 287	212 284 224(Inflex.)	207 235 287	210 245 332
H_2SO_4-Reaktion	braun, dann rot-violett	gelbbraun	purpurrot	blutrot
Modifiz. H_2SO_4-Reaktion a) b) c)	blau-violett rot-braun farblos	grasgrün braun.Ring farblos	blau-violett grün-blau farblos	rot-braun braun farblos

a) = Oberphase
b) = Ring
c) = Unterphase

Ein Vergleich von Pseudocubebin und Aschantin zeigt, daß beide Substanzen den gleichen Schmelzpunkt haben, eine fast übereinstimmende optische Drehung aufweisen und sehr ähnlich mit konz. Schwefelsäure tüpfeln. Eine schnelle und eindeutige Unterscheidung zwischen Aschantin und Pseudocubebin ist daher unmöglich, wenn eine Vergleichsprobe fehlt. Die Tüpfelreaktionen allein mit konz. Schwefelsäure sind nicht unterschiedlich genug, und man kann sie daher nicht als entscheidendes Kriterium gelten lassen. Die Schwierigkeit in der Auslegung der Tüpfelteste besteht besonders in der Unterscheidung brauner und braunroter Farbtöne.

Es sollte daher eine Farbreaktion gefunden werden, die eine leichte und eindeutige Unterscheidung zwischen Aschantin und Pseudocubebin möglich machte. Dies gelang durch eine einfache Modifizierung der Schwefelsäurereaktion.

Werden einige mg der zu prüfenden Substanz in Essigsäureanhydrid gelöst, und die Lösung mit konz. Schwefelsäure unterschichtet, dann bilden sich charakteristische Farbzonen aus. Bei Gegenwart von Aschantin wird die grasgrüne Oberphase von der farblosen Unterphase durch einen braunen Ring getrennt. Die gleiche Reaktion führt bei Pseudocubebin zu einer blauvioletten Oberphase und einer ebenfalls farblosen Unterphase. Die Zonen werden hier durch einen rotbraunen Ring unterteilt. Die Unterphasen bleiben zunächst farblos, nehmen aber nach ca.15 Minuten die Farbe des Ringes an.

Diese Eigenschaften des Pseudocubebins und Aschantins, sowie im Vergleich hierzu die des Cubebins und Piperins sind ebenfalls in Tabelle 4 gegenübergestellt.

Die Anwendung der oben beschriebenen modifizierten Schwefelsäurereaktion auf einen aetherischen Gesamtauszug der Drogen von P.cubeba und P.guineense ergab, daß dieser Test zur schnellen Unterscheidung der beiden Drogen brauchbar ist.

Der Verdunstungsrückstand von 1 ml Aetherextrakt wird in Essigsäureanhydrid aufgenommen und in üblicher Weise mit

konz. Schwefelsäure unterschichtet. Liegen echte Kubeben vor, dann führt die Reaktion zunächst zu einer grünen, dann blauvioletten Oberphase und zu einer farblosen Unterphase, die beide durch einen tiefgrünen Ring voneinander getrennt werden. Liegt hingegen Aschanti-Pfeffer vor, so ist der zwischen Ober- und Unterphase sich ausbildende Ring rotbraun gefärbt.(Vgl.Tabelle 5)

Tab. 5 Modifizierter H_2SO_4-Test zur Unterscheidung von P.cubeba und P.guineense

Fruchtdroge	Oberphase	Ring	Unterphase+)
P.cubeba	grün, nach 5 Min. blau-violett	dunkelgrün	farblos
P.guineense	grün, nach 15 Min. blau-violett	rot-braun	farblos

+) Die Schwefelsäurezonen färben sich nach ca.15 Minuten in der Farbe der Ringe.

IV Zusammenfassung

Zur näheren Charakterisierung des Aschantipfeffers, einer häufig anzutreffenden Verfälschung der echten Kubeben, wurde einer Beobachtung nachgegangen, nach der sich Auszüge der Droge mit konz. Schwefelsäure charakteristisch verfärben. Eine Unterscheidung der beiden Drogen ist durch Anwendung einer modifizierten Schwefelsäurereaktion möglich.

Zwei für die Reaktion verantwortliche Chromogene wurden isoliert und als Lignankörper erkannt. Eine der beiden Verbindungen konnte in einer Ausbeute von 0,8 % erhalten werden und wurde mit dem aus verschiedenen Pflanzen bereits isolierten Pseudocubebin = d-Sesamin, $C_{20}H_{18}O_6$, Smp. 123°C, identifiziert.

Der zweite Lignankörper, der ebenfalls einen Smp. von 123°C aufwies, wurde in einer Ausbeute von 0,2 % erhalten. Für die Verbindung wurde die Bruttoformel $C_{22}H_{24}O_7$ ermittelt. Die Konstitution dieses in der Literatur bisher nicht beschriebenen Stoffes, für den der Name Aschantin vorgeschlagen wurde, konnte aufgeklärt werden. Aschantin ist ein (+)2-(3',4'-Methylendioxyphenyl)-6-(3",4",5"-Trimethoxyphenyl)-3,7-Dioxabicyclo-[3,3,0]-oktan. Die Konstitution wird durch IR-Spektren bestätigt.

Es handelt sich beim Aschantin um eine dem Pseudocubebin nahe verwandte Substanz: beiden Verbindungen gemeinsam ist der Dioxabicyclo-oktan-Mittelring und ein durch Dioxymethylen substituiertes Seitenphenyl. Der Unterschied zwischen Aschantin und Pseudocubebin besteht darin, daß im zweiten Seitenphenyl des Aschantins an Stelle einer Methylendioxy-Gruppe drei Methoxylgruppen als Substituenten vorliegen.

V Experimenteller Teil

A Cubebin aus Piper cubeba

1) Isolierung von Cubebin zu Vergleichszwecken

a) nach einer von E.MAMELI[34] und R.D.HAWORTH u. W.KELLY[27] beschriebenen Methode

Das Cubebin wurde aus den unreifen Früchten von Piper cubeba isoliert. Zu diesem Zweck wurde der aus 250,0 g Früchten bereitete methanolische Extrakt konzentriert und anschließend einer Wasserdampfdestillation unterworfen, um die aetherischen Öle abzutrennen. Der noch heiße, harzige Rückstand wurde mit 2n-NaOH alkalisch gemacht und nach dem Erkalten mit Aether extrahiert. Dieser Aetherextrakt wurde zur Trockne eingeengt und in Methanol aufgenommen. Aus dieser Lösung kristallisierte das Cubebin in Form kleiner, farbloser Nadeln, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol einen konstanten Smp. 128 - 129°C hatten. Die Ausbeute betrug 1,2 %.

b) nach einem neuen, chromatographischen Verfahren

200,0 g Fruct.Cubebae DAB 6 wurden grob gepulvert und zunächst mit Petrolaether 6 Stunden lang im Soxhlet extrahiert. Der Extrakt hinterließ nach völliger Vertreibung des Lösungsmittels einen dunkelgrünen, öligen Rückstand(25,0 g).

Eine anschließende 24stündige Aetherextraktion der so vorbehandelten Droge im Soxhlet ergab einen gelbgrün gefärbten Extrakt, dessen Rückstand mit konz. Schwefelsäure eine stark purpurviolette, für Cubebin charakteristische Tüpfelreaktion zeigte[36]. Der Aetherextrakt wurde auf 50 ml eingeengt und damit eine im folgenden beschriebene Säule beschickt.

Die Länge der Säule betrug 30 cm, ihr Durchmesser 2,5 cm. Zur Chromatographie wurde Aluminiumoxyd, aktiv, neutral, Stufe II - III der Fa. MERCK verwendet. Die Säule war am

Ablauf mit einem Schliffhahn versehen und wurde auf eine Tropfgeschwindigkeit von 45 Tropfen pro min. eingestellt.

Bei der Elution mit Aether bildeten sich an der Säule sechs Zonen aus, die von unten nach oben beschrieben folgendes Aussehen hatten.(Abb.9)

	cm	TL	UV+)
1.Zone	5	farblos	—
2.Zone	7	hellgrün	bräunlich
3.Zone	5	dunkelgrün	rot
4.Zone	4	hellgrün	rot
5.Zone	3	hellgelb	orange
6.Zone	6	farblos	—

Die Eluate der 1.u.2.Zone hinterließen einen öligen Rückstand, während die der 3.,4.u.5.Zone bereits beim Abtropfen von der Säule Neigung zur Kristallisation zeigten. Sie wurden vereinigt, auf 30 ml eingeengt, mit 2,0 g Aktivkohle 5 Min. geschüttelt und zur Kristallisation in den Kühlschrank gestellt.

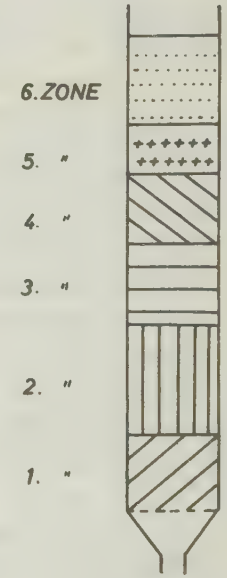


Abb. 9

Nach 2 - 3 maligem Umkristallisieren aus Methanol erhielten wir nadelförmige, farb- und geschmacklose Kristalle (1,5 g) Smp. 128 - 129°C.

Die beobachtete Rotfluoreszenz der Cubebin führenden Fraktionen im UV-Licht wurde durch die aetherisch-öligen Begleitstoffe hervorgerufen. Cubebin selbst fluoreszierte nicht.

2) Eigenschaften des Cubebins

a) Löslichkeit und Farbreaktionen

Cubebin kristallisierte aus Methanol in farblosen, feinen Nadeln oder dünnen Prismen (Smp. 128 - 129°C). Es war in

+) Quarzlampe Hanau

der Kälte unlöslich in Wasser, wenig löslich in Methanol und Aether, sehr gut löslich in Aceton und Chloroform. In der Wärme hingegen bildeten Aether und Methanol sehr gute Lösungsmittel.

Mit konz. Schwefelsäure gab Cubebin die purpurviolette Färbung, die als charakteristische Reaktion angesehen wird.

Wurden ca.5-10 mg Cubebin in 1-2 ml Essigsäureanhydrid gelöst, und diese Lösung mit 3 ml konz. Schwefelsäure unterschichtet, dann färbte sich die Essigsäureanhydridzone nach 2-3 Min. kräftig blauviolett. An der Trennzone beider Flüssigkeiten bildete sich ein grünblauer Ring aus, während die Schwefelsäure zunächst farblos blieb. Erst nach 15 Min. nahm auch diese die Farbe des Ringes an.

Versetzt man Cubebin mit etwas Ammoniummolybdat und fügt konz. Schwefelsäure hinzu, so geht die zuerst auftretende Purpurfärbung bald in ein intensives Blau über.

b) Spezifische Drehung

Vor der Bestimmung der spez. Drehung wurde die Substanz in der Vakuumpistole (100°C; 14 mm Hg) bis zur Gewichtskonstanz über P_2O_5 getrocknet.

In Aceton:

Spez.Drehung $C_{20}H_{20}O_6$: $[\alpha]_D^{20} = -17,9^\circ$

(122,5 mg in 25 ml Aceton; l = 1,0 dm) c = 0,49

Die Drehwerte veränderten sich innerhalb von 24 Stunden nicht.

c) Papierchromatographie des Cubebins

Zur Anfertigung der Papierchromatogramme wurde Azetyl-Papier der Fa. SCHLEICHER & SCHÜLL Nr.2043 B verwendet. Es wurde nach der aufsteigenden Methode auf 2,5 x 20 cm großen Papierstreifen chromatographiert. Als Laufmittel diente eine 50%ige Mischung von Wasser und n-Propanol (v/v).

Zur Untersuchung wurden von einer 1%igen methanolischen Cubebinlösung 0,2 ml auf das Papier aufgetragen und im oben genannten System entwickelt. Die Laufzeit betrug bei einer Temperatur von 18°C ca.4 Stunden.

Um die Flecken sichtbar zu machen, wurden die Chromatogramme einmal mit konz. Schwefelsäure bestrichen, andere wurden mit Antimontrichloridlösung besprüht. Im ersten Falle gab sich das Cubebin durch einen roten Farbfleck zu erkennen, im zweiten durch einen violetten Fleck mit einer stark blauen Randzone.

Cubebin Rf = 0,45

d) Das Verhalten von Cubebin gegen verdünnte Alkalilösung

0,2 g Cubebin wurden 15 Min. lang mit 10%iger Kalilauge in der Siedehitze behandelt. Das nach dieser Zeit äußerlich unveränderte Lignan wurde abfiltriert, mit Wasser alkalifrei gewaschen und getrocknet. Es zeigte hiernach auch keine Veränderung des Schmelzpunktes und keine Schmelzpunktdepression mit dem Ausgangsmaterial. Auch ergab sich keine Abweichung vom UV-Spektrum des ohne Alkalieinfluß isolierten Cubebins.

3) UV-Absorptionsspektrum des Cubebins

Die Extinktion von Cubebin, $C_{20}H_{20}O_6$, Mol.Gew. 356,16 , wurde in Methanol p.a. in Quarzküvetten mit der Schichtdicke 1 cm mit dem Spektralphotometer der Fa.Carl ZEISS PM Q II gemessen.

Einwaage: 1,7 mg Cubebin
$c = 1{,}7 \cdot 10^{-2}\ g \cdot l^{-1}$

$Max._1$ = 207 mμ	$E_{spez.}$ = 68,8
$Max._2$ = 235 mμ	$E_{spez.}$ = 27,6
$Max._3$ = 287 mμ	$E_{spez.}$ = 27,1
$Min._1$ = 222 mμ	$E_{spez.}$ = 20,8
$Min._2$ = 255 mμ	$E_{spez.}$ = 2,12

B Piperin aus Piper nigrum

1) Isolierung von Piperin zu Vergleichszwecken

Grob pulverisierte reife Früchte von Piper nigrum (50,0 g) wurden im Soxhlet-Apparat 8 Stunden mit Aether extrahiert. Der Extrakt wurde auf 10 ml eingeengt, und das nach kurzer Zeit ausgefallene Rohpiperin (1,0 g) aus Methanol mit wenig Aetherzusatz mehrmals umkristallisiert. Das Piperin kristallisierte in gelblichen Prismen (Smp. 129°C).

2) Eigenschaften des Piperins

a) Löslichkeit und Farbreaktionen

Piperin, $C_{17}H_{19}O_3N$, kristallisiert in gelblichen, monoklinen Prismen (Smp. 129°C) und schmeckt scharf pfefferartig. In Wasser löst es sich fast nicht, gut dagegen in warmem Alkohol, Aether, Chloroform und Benzol.

Konz. Schwefelsäure gibt mit den Kristallen eine intensiv blutrote Färbung. Verreibt man Piperin mit wenig Ammoniummolybdat und gibt dann etwas konz. Schwefelsäure hinzu, so geht der zunächst entstehende blutrote Farbton sehr bald in ein tiefes Blau über. Dieses endlich schlägt nach einiger Zeit in Blaugrün um.

b) Qualitativer Stickstoffnachweis[22)]

Eine kleine Substanzprobe wurde in einem kleinen Reagenzglas von etwa 5 mm Weite und 5 cm Länge mit einem halblinsengroßen Stückchen blanken Natriums solange in einer Bunsenflamme erhitzt, bis unter Dunkelfärbung Zersetzung eintrat. Das darauf bis zur Rotglut erhitzte Röhrchen wurde noch heiß in ein kleines Becherglas getaucht, das 5 ml Wasser enthielt. Die wäßrige Lösung wurde von Kohle und den Glassplittern des zersprungenen Reagenzglases abfiltriert, das Filtrat mit je 2 Tropfen Ferrosulfat- und Eisenchloridlösung versetzt, geprüft ob die Flüssigkeit alkalisch re-

agiert, und 1-2 Min. erhitzt. Die alkalische Lösung wurde nun mit Salzsäure angesäuert. Es lösten sich abgeschiedenes Eisenoxyd und Eisenoxydulhydrat auf, und wir erhielten eine blaugrüne Lösung. Erst nach einigen Stunden setzte sich ein blauer Niederschlag von Berlinerblau ab.

C Pseudocubebin aus Piper guineense SCHUM. et THONN.

1) Zur Herkunft und Identifizierung der Droge, Vorbereitung und Extraktion

Die Droge wurde uns von der Fa.HERBETA, Berlin, unter der Handelsbezeichnung - Fructus Cubebae Kongo - geliefert. Auf Rückfrage wurde uns erklärt, daß es sich mit Sicherheit um Ware afrikanischer Herkunft handelt. Die Früchte waren etwas kleiner als die der echten Kubeben. Vielfach zeigten die kaum gerunzelten Früchte ein bestäubtes, schimmeliges Aussehen, was ihnen eine weißlich-graue Farbe verlieh. Bei der anatomischen Untersuchung der Droge zeigte sich, daß den Früchten die beiden (innere und äußere) Steinzellenschichten des Pericarps fehlten. Die Tüpfelreaktion nach BERGER war braungelb und ging nach 10 Minuten in ein schmutziges Violett über. Demnach handelt es sich um Kongo-Kubeben, die von Piper guineense abstammen. Die Droge wurde von Frau Professor Dr.I.ESDORN, Hamburg, und Herrn Dr.Dr.F.BERGER, Wien, begutachtet[+]. Es wurde uns die Bestimmung als Piper guineense bestätigt.

Die Früchte von P.guineense (1 kg) wurden grob pulverisiert und in Soxhlet-Apparaten in Anteilen zu je ca. 330,0 g mit Aether 40 Stunden lang erschöpfend extrahiert. Die Aetherauszüge wurden vereinigt und auf 500 ml eingeengt. Der Extrakt war in dieser Konzentration von dunkler, braunroter Farbe und roch stark aromatisch.

Der durch diese Aetherbehandlung entstandene Gewichtsverlust der Droge betrug 10 %.

[+] Wir danken Frau Professor Dr.ESDORN für die Übersendung einiger Proben afrikanischer Piperaceenfrüchte, sowie Herrn Dr.Dr.BERGER für die schriftliche Bestätigung unserer Untersuchungsergebnisse.

2) Die Isolierung von Pseudocubebin aus einem Rohkristallisat

Der aetherische Pflanzenauszug wurde 14 Tage bei einer Temperatur von 12°C aufbewahrt. In dieser Zeit bildeten sich kristalline Abscheidungen in einer Menge von 8,0 g.

Dieses dunkelbraune Rohkristallisat wurde mit wenig Petrolaether mehrmals gewaschen. Eine nochmalige Auswaage des Rohproduktes ergab jetzt 5,0 g. Die Substanz wurde mehrmals jeweils mit der 40fachen Menge Methanol umkristallisiert. Wir erhielten eine in mehr oder weniger langen Nadeln kristallisierende Substanz mit dem konstanten Smp. 123°C. Ausbeute 0,8 g.

3) Eigenschaften des Pseudocubebins

a) Löslichkeit und Farbreaktionen[25)36)]

Pseudocubebin, $C_{20}H_{18}O_6$, kristallisiert aus Methanol in farblosen, geruch- und geschmacklosen Nadeln (Smp.123°C), die teilweise eine Länge von 5 cm erreichen. Eine mit einer authentischen Probe von d-Sesamin bereitete Mischung zeigt keine Schmelzpunktdepression.

Pseudocubebin löst sich schon in der Kälte sehr gut in Chloroform, während die Löslichkeit in Aether und Methanol nur in der Wärme befriedigend ist. Petrolaether zeigt fast kein Lösungsvermögen für Pseudocubebin. Dagegen stellen Benzol, Xylol, Paraffin und aetherische Öle gute Lösungsmittel dar.

Mit konz. Schwefelsäure färbt sich Pseudocubebin zunächst gelbbraun. Diese Farbe verdunkelt sich schon nach Sekunden über Braunrot nach Rotviolett.

Mischt man sehr wenig Substanz mit etwas Ammoniummolybdat und fügt eine geringe Menge Schwefelsäure hinzu, dann tritt nach kurzer Zeit eine intensive blaue Farbe auf, die nach längerem Stehen ins Rötliche übergeht.

Werden 5-10 mg Pseudocubebin unter den bereits beim Cubebin beschriebenen Bedingungen in Essigsäureanhydrid gelöst und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet (s.A 2a), dann färbt sich die Anhydridzone blau-violett, und an der Trennschicht beider Flüssigkeiten bildet sich ein rotbrauner Ring aus. Die Schwefelsäure bleibt zunächst farblos, nimmt aber nach 15 Min. auch die Farbe des Ringes an.

b) Spezifische Drehung

Die Substanz wurde vor der Bestimmung in der Trockenpistole über P_2O_5 (100°C; 14 mm Hg) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

In Chloroform:

Spez.Drehung $C_{20}H_{18}O_6$: $[\alpha]_D^{20} = +58,6^\circ$

(75,0 mg in 25 ml Chloroform; l = 1,0 dm) c = 0,3

Eine Wiederholung der Messung nach 24 Stunden erbrachte keine Veränderung der Meßergebnisse.

c) Papierchromatographie des Pseudocubebins und eine papierchromatographische Auftrennung von Cubebin und Pseudocubebin

Die Versuche wurden unter denselben Bedingungen durchgeführt, wie sie schon bei der Papierchromatographie des Cubebins beschrieben sind. Auch hier fand als Laufmittel eine 50%ige Mischung (v/v) von Wasser und n-Propanol Verwendung.

Durch Bestreichen der Chromatogramme mit konz.Schwefelsäure wurden die Stoffe sichtbar gemacht. Sie färbten sich in der erwarteten Weise:

Cubebin purpurrot Rf = 0,45

Pseudocubebin zunächst gelbbraun dann rotviolett Rf = 0,32

4) UV-Absorptionsspektrum von Pseudocubebin

Pseudocubebin, $C_{20}H_{18}O_6$, Mol.Gew. 354,34. Seine Extinktion wurde in Methanol p.a. in Quarzküvetten (Schichtdicke 1 cm)

mit einem Spektralphotometer der Fa.ZEISS PM Q II gemessen.

Einwaage: 1,8 mg Pseudocubebin
$c = 1{,}8 \cdot 10^{-2}\ g \cdot l^{-1}$

$Max._1$ = 208 mμ	$E_{spez.}$ = 69,4
$Max._2$ = 237 mμ	$E_{spez.}$ = 27,6
$Max._3$ = 287 mμ	$E_{spez.}$ = 26,1
$Min._1$ = 220 mμ	$E_{spez.}$ = 15,5
$Min._2$ = 256 mμ	$E_{spez.}$ = 0,67

5) IR-Absorptionsspektren von Pseudocubebin und d-Sesamin
(Abb.7; Tab.6)

Die Infrarot-Absorptionsspektren beider Stoffe wurden mit einem vollautomatischen LEITZ-IR-Spektrophotometer von 4000 bis 700 cm^{-1} aufgenommen. Der Apparat war mit einem NaCl-Prisma ausgerüstet.
Die Substanzen wurden in Kaliumbromid gemessen. Für Pseudocubebin und d-Sesamin wurden völlig identische Kurvenbilder aufgezeichnet.

Tab. 6

Banden-Frequenz $[cm^{-1}]$

s	m	w
	3400	
2840		
	1605	
1500		
1450		
	1405	
1370		
		1320
1255		
1200		
	1140	
1100		
1060		
1035		
972		
	955	
930		
		873

s	m	w
858		
		840
	830	
		815
	804	
782		
	750	
	717	

s = starke
m = mittelstarke
w = schwache Banden

D Aschantin aus Piper guineense SCHUM.et THONN.

1) Papierchromatographie von Aschantin und Pseudocubebin

Es wurden das Rohkristallisat und die bei seiner Umkristallisation anfallenden Mutterlaugen unter den gleichen Bedingungen, wie unter A 2c) angegeben, papierchromatographiert. Vergleiche auch C 3c).

Durch Bestreichen der Chromatogramme mit konz.Schwefelsäure sollten die Substanzen als Farbflecke sichtbar gemacht werden.

Ergebnis: a) Auf allen Chromatogrammen zeigte sich Pseudocubebin durch seine zunächst gelbbraune, später rotviolette Tüpfelreaktion.

Pseudocubebin Rf = 0,32

b) Auf den Chromatogrammen wurde ein zweiter Fleck sichtbar, der sich durch seine anhaltende braungelbe Tüpfelung auszeichnete.

Aschantin Rf = 0,52

Die Größe und Farbintensität nahm mit zunehmendem Reinheitsgrad des Pseudocubebins und seiner Mutterlaugen ab.

2) Dünnschichtchromatographie von Aschantin und Pseudocubebin

a) Bereitung der Chromatographieplatten mit Fluoreszeinschichten

Sie erfolgte mit der Gerätegrundausrüstung Nr. 600 der Fa. DESAGA, Heidelberg, und nach der dazugehörigen Arbeitsvorschrift für die Dünnschichtchromatographie nach E.STAHL.

Als Adsorbens diente "Kieselgel G MERCK für Dünnschichtchromatographie nach STAHL".

Zur Bereitung der Streichmasse für 5 Platten 200 x 200 mm

oder 20 Platten 200 x 50 mm werden 30,0 g Kieselgel G mit zunächst 40 ml einer unten beschriebenen Fluoresceinlösung angerieben. Ist die Masse von Klümpchen frei, dann wird sie mit weiteren 20 ml Fluoresceinlösung langsam verrührt. Diese Suspension wird dann sofort mit dem Dünnschicht-Streichgerät ausgestrichen.

Zur Bereitung der Fluoresceinlösung werden 20 mg Fluorescein Erg.B.6 "MERCK" in 1,2 ml n/10 Kalilauge gelöst und mit destilliertem Wasser auf 60 ml aufgefüllt.

Die beschichteten Platten werden 1/2 Stunde bei 105°C getrocknet und sind nach Abkühlung im Exsikkator gebrauchsfertig.

b) Praktische Durchführung

α) Die Auftrennung des nach C 2) gewonnenen Rohkristallisates

Untersucht wurden das Rohkristallisat und die bei seiner Reinigung durch Umkristallisation anfallenden Mutterlaugen. Wir trugen je 2 cmm einer ca.1%igen aetherischen Lösung mit einer Spezialpipette auf die Startpunkte auf und entwickelten in eckigen Trennkammern nach dem aufsteigenden Verfahren. Als Elutionsmittel diente eine Mischung von 80 Teilen Cyclohexan mit 20 Teilen Essigester (v/v).

Das Chromatogramm hatte nach 45 Min. bei einer konstanten Temperatur von 16°C eine Steighöhe von 10 cm erreicht und wurde nach Abdunsten des Elutionsmittels unter langwelligem UV-Licht betrachtet.

Die aufgetrennten Stoffe waren als dunkle Flecken auf der stark gelbgrün fluoreszierenden Platte leicht erkennbar.

Aschantin Rf = 0,18
Pseudocubebin Rf = 0,52

ß) Die Auftrennung eines Aetherextraktes von P.guineense

Auf Fluoresceinplatten wurden je 2 cmm Aetherextrakt mit einer Mischung von 70 ml Cyclohexan und 80 ml Essigester bei einer Raumtemperatur von 20°C entwickelt. Die Lösungsmittelfront erreichte unter diesen Bedingungen bereits nach 30 Minuten eine Höhe von 10 cm.

Bei der Betrachtung unter UV-Licht war eine Auftrennung in acht verschiedene Stoffe mit folgenden Rf-Werten zu beobachten.

Rf_1= 0,15 Rf_2= 0,32 Rf_3= 0,42 Rf_4= 0,47
Rf_5= 0,75 Rf_6= 0,91 Rf_7= 0,96 Rf_8= 0,99

Unter den gleichen Bedingungen angefertigte Vergleichschromatogramme von Pseudocubebin und Aschantin zeigten, daß

Rf_5= 0,75 dem Aschantin

Rf_6= 0,91 dem Pseudocubebin zugeordnet werden müssen.

3) Die Isolierung von Aschantin neben Pseudocubebin nach einem säulenchromatographischen Verfahren

a) Die Aufarbeitung eines kristallinen Gemisches beider Stoffe

Aus 1,6 kg Droge wurde, wie unter C 1) beschrieben, ein Aetherextrakt hergestellt und dieser auf 400 ml eingeengt. Aus dieser Konzentration hatten sich nach 10 Tagen bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12°C 24,0 g eines stark verunreinigten kristallinen Gemisches von Aschantin und Pseudocubebin abgeschieden.

10,0 g dieses gelbbraunen Mischkristallisates wurden fein verrieben, am Rückflußkühler in 100,0 g siedendem Aether gelöst und an einer im folgenden näher beschriebenen Säule chromatographiert.

Als Adsorbens wurde neutrales Aluminiumoxyd, aktiv, Stufe II - III der Fa. MERCK verwendet. Die Säule war 50 cm lang

und hatte einen Durchmesser von 2,5 cm. Sie war am Ablauf mit einem Schliffhahn versehen. Das Mengenverhältnis Substanz zu Adsorbens betrug 1 : 35.

Bei der Elution mit Aether wurde die Auslaufgeschwindigkeit auf 35 - 40 Tropfen pro min. eingestellt. Es bildeten sich an der Säule 8 Zonen aus, die von unten nach oben beschrieben folgendes Aussehen hatten. (Abb.10)

	cm	TL
1.Zone	7	rosa
2.Zone	4	farblos
3.Zone	3	rosa
4.Zone	26	farblos
5.Zone	6	beige
6.Zone	1	farblos
7.Zone	2	hellgrün
8.Zone	1	grün

Im UV-Licht waren keine charakteristischen Farbunterschiede wahrzunehmen.

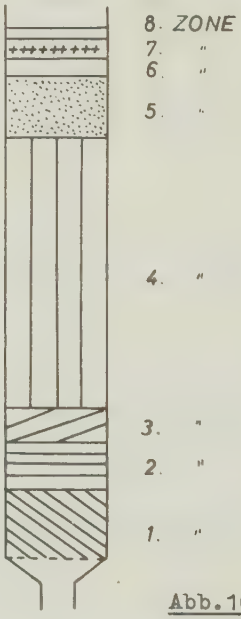


Abb.10

Die Eluate der Zonen 1) 2) und 3) wurden vereinigt.
Zone 4) wurde solange eluiert, bis der Verdunstungsrückstand eines ablaufenden Tropfens keine zunächst gelbbraune, nach kurzer Zeit jedoch ins Rotviolette umschlagende Tüpfelreaktion mit konz. Schwefelsäure mehr zeigte.

Diese Fraktion der Zone 4) wurde den vereinigten Zoneneluaten 1) 2) 3) hinzugefügt und bildete mit diesen zusammen das ca. 1600 ml umfassende Eluat I.

Die Restfraktion der Zone 4) ergab zusammen mit dem Eluat der Zone 5) das Eluat II, das ein Volumen von 1200 ml einnahm. Eine Tüpfelprobe dieses Eluates zeigte eine andauernde gelbbraune Schwefelsäurereaktion, die eher zu einem

Farbumschlag nach Grün neigte.

Aus beiden auf ca. 20 ml eingeengten Lösungen schieden sich beim Abkühlen spontan kristalline Stoffe ab. Diese Substanzen wurden nach 24 Stunden abfiltriert, mit wenig Aether gewaschen und so in rein farbloser Form erhalten.

Wir ließen aus den rot gefärbten aetherischen Mutterlaugen das Lösungsmittel bei Zimmertemperatur verdunsten und gewannen so zusätzlich eine kleine Menge beider Stoffe, die nach Abspülen mit wenig Aether wiederum völlig farblos waren.

Es wurden so gewonnen:

aus Eluat I	3,8 g	Pseudocubebin
aus Eluat II	1,1 g	Aschantin

Wir kristallisierten die Substanzen mehrmals aus Methanol um.

Pseudocubebin Smp. 123°C
Aschantin Smp. 123°C

b) Die Trennung von Pseudocubebin und Aschantin aus dem Aetherextrakt der Droge

100 ml des nach D 3a) hergestellten und auf 400 ml eingeengten Aetherextraktes wurden unter den gleichen Bedingungen, wie dort angegeben, an Aluminiumoxyd chromatographiert.

Aus Eluat I kristallisierten	0,9 g	Pseudocubebin
	0,15 g	Aschantin

4) Eigenschaften des Aschantins

a) Löslichkeit und Farbreaktionen

Aschantin kristallisiert aus Methanol in farblosen, geruch- und geschmacklosen kräftigen Prismen (Smp. 123°C). Der Mischschmelzpunkt mit Pseudocubebin ergibt eine Depression von 15°C.

Aschantin löst sich sehr gut in Chloroform und Aceton, gut in Methanol und nur in der Wärme in Aether. In Petrolaether

ist es sehr schlecht löslich.

Mit konz. Schwefelsäure färbt sich Aschantin gelbbraun. Diese Farbe geht nach ein paar Minuten in ein schmutziges Grünbraun über.

Werden 5-10 mg Aschantin unter den bereits beim Cubebin und Pseudocubebin beschriebenen Bedingungen in Essigsäureanhydrid gelöst und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet (s. A 2a), dann färbt sich die Anhydridzone grün, und an der Trennschicht der zunächst farblosen Schwefelsäure bildet sich ein brauner Ring aus. Nach 15 Minuten nimmt auch hier die Schwefelsäure die Farbe des Ringes an.

b) Qualitative Prüfung auf Stickstoff[22)]

100 mg Aschantin wurden in einem kleinen Reagenzglas mit einem halblinsengroßen Stückchen blanken und trockenen Natriums in der Bunsenflamme zunächst bis zur Dunkelfärbung und hierauf bis zur Rotglut erhitzt. Das noch heiße Röhrchen wurde in ein 5 ml Wasser enthaltendes kleines Becherglas gestürzt, wobei das Reagiergläschen zersprang. Es wurde von Kohle und Glassplittern abfiltriert und die wäßrige Lösung mit je 2 Tropfen Ferrosulfat- und Eisenchloridlösung versetzt. Die alkalisch reagierende Flüssigkeit wurde nach dem Erkalten mit Salzsäure angesäuert. Wir erhielten nach Auflösung von Eisenoxyd und Eisenoxydulhydrat eine gelblich gefärbte Lösung, aus der selbst nach 24stündigem Stehen keine Bildung von Berlinerblau in Form eines Niederschlages zu erkennen war.

c) Qualitative Prüfung auf Schwefel[22)]

100 mg Aschantin wurden in der im vorigen Abschnitt beschriebenen Weise mit Natrium geglüht. Die Schmelze wurde ebenfalls in Wasser aufgenommen und die Hälfte des Filtrats mit 2 Tropfen einer frisch bereiteten Nitroprussidnatriumlösung versetzt. Eine Violettfärbung, wie sich in einem mit Thioharnstoff angestellten Modellversuch zeigte, war nicht festzustellen.

Die zweite Hälfte des Filtrats wurde mit Bleiazetatlösung versetzt und mit Essigsäure angesäuert. Eine dunkle Trübung, wie sie Bleisulfid hervorrufen würde, war nicht zu erkennen.

d) Elementaranalyse

Zur Vorbereitung wurde Aschantin im Hochvakuum bei 50°C getrocknet. 4,462 mg Substanz verloren dabei 0,007 mg an Gewicht, d.s. 0,15 %.

Gefunden:	C	66,16	H	6,19
		65,8		5,9
		66,15		6,28
		66,57 %		6,18 %
Berechnet				
f. $C_{22}H_{24}O_7$:	C	65,99 %	H	6,04 %

Der Sauerstoff wurde direkt bestimmt.

Gefunden:	O	27,97 %
Berechnet		
f. $C_{22}H_{24}O_7$:	O	27,97 %

e) Molekulargewichtsbestimmung

Aschantin wurde bei 50°C im Hochvakuum getrocknet. Sein Molekulargewicht ist nach der von K.RAST[22)] beschriebenen Methode mit Kampfer bestimmt worden.

Mol.Gew. $C_{22}H_{24}O_7$	Gefunden	397,0
	Berechnet	400,41

f) Spezifische Drehung

Die Substanz wurde vor der Bestimmung in der Trockenpistole über P_2O_5 (100°C; 14 mm Hg) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

In Chloroform:

Spez.Drehung $C_{22}H_{24}O_7$: $[\alpha]_D^{20} = +55,2°$

(34,2 mg in 5 ml Chloroform gelöst; l = 1 dm) c = 0,684

Eine Wiederholung der Messung nach 24 Stunden erbrachte keine Veränderung der Meßergebnisse.

g) Maßanalytische Bestimmung von Methoxylgruppen

Aschantin wurde 8 Stunden in der Vakuumpistole (100°C; 14 mm Hg) getrocknet. Die Methoxylbestimmung wurde nach der Methode von ZEISEL[22] ausgeführt.

Aschantin; Mol.Gew. 400,41

Gefunden	$-OCH_3$	23,05 %
Berechnet für	$(-OCH_3)_3$	23,2 %

h) Nachweis von Dioxymethylengruppen

α) Modifizierter Chromotropsäuretest nach KEGRIWE[41)43)]

Etwa 1 mg Aschantin wurde in einem kleinen oben zugeschmolzenen Destillierkölbchen mit 3 ml Phosphorsäure (d = 1,7) langsam erhitzt. Das Destillat wurde tropfenweise in verschiedenen Vorlagen aufgefangen. Wir erhielten auf diese Weise sieben Fraktionen.

Diese wurden mit je 0,5 ml 72%iger Schwefelsäure und einer Spatelspitze Chromotropsäure versetzt. Alle Vorlagen wurden nun gleichzeitig in einem siedenden Wasserbad 15 Minuten erwärmt und zeigten nach dieser Zeit eine charakteristische Violettfärbung.

Als Vergleichssubstanz für Modellversuche diente Pseudocubebin.

ß) Methylendioxytest mit Gallussäure[8)]

1 mg Aschantin wurde mit 1 ml konz. Schwefelsäure versetzt. Die gelbbraune Lösung wurde nach Zugabe eines Tropfens einer 5%igen alkoholischen Gallussäure innerhalb von 30 Minuten intensiv grün gefärbt.

k) Azetylierung von Aschantin

0,2 g Aschantin wurden nach Zugabe von 0,7 g Natriumazetat und 7 ml Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler 1 Stunde lang in der Siedehitze azetyliert. Die erkaltete Lösung wurde tropfenweise in 50 ml eisgekühltes Wasser gegeben. Es wurde mit Aether ausgeschüttelt, die Aetherphase säurefrei gewaschen und getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand in heißem Methanol gelöst.

Wir erhielten farblose Prismen vom Smp. 123°C. Ein Mischschmelzpunkt mit Aschantin ergab keine Depression.

5) UV-Absorptionsspektrum von Aschantin

Aschantin, $C_{22}H_{24}O_7$, Mol.Gew. 400,41

Die Extinktion wurde in Methanol p.a. mit einem Spektralphotometer der Fa.Carl ZEISS PM Q II gemessen. Die Schichtdicke der verwendeten Quarzküvetten betrug 1 cm.

Einwaage: 1,8 mg Aschantin
$c = 1{,}8 \cdot 10^{-2}\ g \cdot l^{-1}$

$Max._1$ = 212 mμ		$E_{spez.}$ = 99,5
$Max._2$ = 284 mμ		$E_{spez.}$ = 14,7
Inflexion 224 mμ		$E_{spez.}$ = 38,4
Min. = 256 mμ		$E_{spez.}$ = 3,4

6) IR-Absorptionsspektrum von Aschantin
(Abb.7; Tab.7)

Das Spektrum wurde mit dem vollautomatischen LEITZ-IR-Spektrophotometer im Bereich von 4000 bis 700 cm^{-1} aufgenommen.

Prisma: NaCl

Aschantin wurde in Kaliumbromid gemessen.

Tab. 7 Banden-Frequenz $[cm^{-1}]$

s	m	w
	3400	
	2850	
1590		
	1510	
1485		
	1465	
	1445	
1425		
	1390	
	1370	
	1320	
1250		
1235		
		1210
	1190	
	1150	
1130		
	1100	
1070		
1035		
1010		
		985
930		
		915
	873	
830		
815		
		782
		765
	717	

s = starke
m = mittelstarke
w = schwache Banden

7) Der Abbau von Aschantin mit Kaliumpermanganat

a) Die Herstellung von Piperonylsäure zu Vergleichszwecken[19)]

5,0 g reines Piperonal wurden in 100 ml Wasser durch Erwärmen gelöst. Der heißen Lösung wurde solange eine 5%ige Kaliumpermanganatlösung zugesetzt, bis der charakteristische Piperonalgeruch verschwunden war. Es wurde vom Braunstein abfiltriert, die Lösung auf 100 ml eingedampft und mit verd. Salzsäure gefällt.

Die Piperonylsäure wurde aus Methanol umkristallisiert und in kleinen, farblosen, spiegelnden Schuppenkristallen erhalten. Smp. 228°C. Ausbeute: 3,0 g.

Piperonylsäure war in der Kälte in Wasser, Aether, Alkohol fast unlöslich.

b) Die Herstellung von 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure[23)]

10,0 g Gallussäure und 12,0 g Natriumhydroxyd wurden in 100 ml Wasser gelöst und mit 20 ml Dimethylsulfat 1/2 Stunde lang geschüttelt. Darauf wurde die Lösung zunächst zwei Stunden am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt und dann unter Zugabe weiterer 2-3 g NaOH noch solange gekocht, bis kein unzersetzter Ester mehr zu beobachten war.

Auf Zusatz von Salzsäure fiel fast reine 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure in einer Ausbeute von 8,0 g aus. Sie wurde aus Wasser umkristallisiert und in langen, gelblichen Nadeln erhalten. Smp. 168 - 169°C.

3,4,5-Trimethoxybenzoesäure war sehr leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform.

c) Ein papierchromatographischer Nachweis der Piperonyl- und 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure

Die Substanzen wurden auf Papier der Fa.SCHLEICHER & SCHÜLL Nr.2043 B chromatographiert. Es wurde nach der aufsteigenden Methode auf 20 x 20 cm großen Papieren gearbeitet, die zu einem Zylinder geformt waren. Als Laufmittel wurden 30%ige und 2%ige Essigsäure verwendet. Die Chromatogramme wurden bei einer konstanten Temperatur von 18°C in ca.1 1/2 Stunden entwickelt und nach Trocknung bei Zimmertemperatur im UV-Licht[+)] betrachtet.

3,4,5-Trimethoxybenzoesäure war als dunkler Fleck zu erkennen, während Piperonylsäure als blaugrüner Fleck sichtbar wurde.

[+)] Klein-UV-Analysenlampe PULA
(Erzeugt vorwiegend UV-Licht der Wellenlänge 260 m)

Die Piperonylsäure zeigte hierbei eine eigenartige Phosphoreszenzerscheinung. Wurde die Belichtung der Chromatogramme mit UV-Licht plötzlich unterbrochen, dann zeigte sich ein zehntelsekundenlanges Nachleuchten der blaugrünen Flecken.

Laufmittel: 30 %ige Essigsäure

3,4,5-Trimethoxybenzoesäure	Rf = 0,90
Piperonylsäure	Rf = 0,78

Laufmittel: 2 %ige Essigsäure

3,4,5-Trimethoxybenzoesäure	Rf = 0,64
Piperonylsäure	Rf = 0,51

d) Der Abbau von Pseudocubebin mit $KMnO_4$ als Modellversuch[16)]

1,0 g Pseudocubebin wurde mit 1,0 g Kaliumhydroxyd feinst verrieben, in 100 ml Wasser suspendiert und auf freier Flamme unter Rückflußkühlung zum Sieden erhitzt. 10,0 g fein gepulvertes Kaliumpermanganat wurden innerhalb von 24 Stunden unter starkem Rühren in kleinen Anteilen zugesetzt. Das Kaliumpermanganat entfärbte sich nunmehr äußerst langsam. Nach Auflösen des MnO_2 mit schwefliger Säure wurde mit Natronlauge gegen Lackmus neutralisiert, eine Spatelspitze Natriumkarbonat zugefügt und im Vakuum auf 20 ml eingeengt. Nach Ansäuern mit verd. Schwefelsäure wurde mit Aether extrahiert. Aus dieser Fraktion schieden sich nach Trocknung über Natriumsulfat und Abdunsten des Lösungsmittels feine, farblose Kristallnadeln, Smp. 226°C, in äußerst geringer Menge ab. Die Substanz wurde durch Mischschmelzpunkt und papierchromatographisch als Piperonylsäure identifiziert.

e) Der Abbau von Aschantin mit Kaliumpermanganat

1,0 g Aschantin wurde in alkalischer Suspension mit Kaliumpermanganat in der Siedehitze behandelt. Es wurden die bereits beim Pseudocubebin als Modellversuch (s.D 7d) angegebenen Versuchsbedingungen eingehalten. Die Aetherfraktion hinterließ nach Vertreiben des Lösungsmittels zarte, farb-

lose Kristallnadeln in sehr geringer Ausbeute. Smp. 168°C. Die Kristalle wurden durch Mischschmelzpunkt und papierchromatographisch als 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure identifiziert.

f) Modellversuch über den Nachweis von Piperonyl- und 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure nach Einfluß von Permanganat unter den Bedingungen des Abbaus von Pseudocubebin

0,1 g Piperonylsäure und 0,1 g 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure wurden in 100,0 g 1%iger Kalilauge gelöst. Unter Rückflußkühlung wurden dieser Lösung innerhalb von 24 Stunden 10,0 g fein gepulvertes Kaliumpermanganat in der Siedehitze zugefügt.

Es wurde versucht, die Säuren in der im Modellversuch mit Pseudocubebin beschriebenen Weise zurückzugewinnen.

Die Aetherfraktion hinterließ einen schmierigen, nicht kristallisierenden Rückstand, in dem papierchromatographisch weder Piperonyl- noch Trimethoxybenzoesäure nachzuweisen waren.

8) Die Alkalischmelze von Pseudocubebin und Aschantin

Je 0,1 g beider Stoffe wurden mit 1,5 g Natriumhydroxyd verrieben und in einem Paraffinbad langsam bis zum Schmelzen erhitzt. Die Gemische nahmen hierbei eine bräunliche Färbung an und wurden 30 Minuten im Schmelzfluß gehalten. Die Schmelzen wurden nach dem Erkalten in Wasser aufgenommen. Es wurde von unlöslichen Bestandteilen abfiltriert, und das Filtrat mit verd. Schwefelsäure angesäuert. Die Lösungen blieben hierbei völlig klar und wurden mit Aether ausgeschüttelt.

Die gewaschenen und getrockneten Aetherphasen wurden auf wenige ml konzentriert und mit 2%iger Essigsäure als Laufmittel papierchromatographiert. Die Chromatogramme zeigten kein Ergebnis.

Cubebin liefert bei einem analogen Versuch Protocatechusäure. Diese wurde als Vergleichssubstanz chromatographiert.

9) Die Einwirkung von Salpetersäure auf Aschantin

a) Die Isolierung von Dinitropseudocubebin als Modellversuch

Nach BOESEKEN und COHEN[7] verhalten sich Pinoresinol und Sesamin = Pseudocubebin gegen Salpetersäure ähnlich. Die Herstellung von Dinitropseudocubebin erfolgte deshalb analog der Isolierung von Dinitro-pinoresinoldimethylaether nach ERDTMAN[16].

Zur Lösung von 2,0 g reinen Pseudocubebins in 15 ml Eisessig wurde bei 15°C eine eisgekühlte Mischung von 4 ml Salpetersäure (D.1,41) und 6 ml Eisessig langsam zugegeben. Das Reaktionsgemisch färbte sich nach ca.20 Minuten gelblich. Nach 24 Stunden wurde das ausgefallene Dinitroderivat abfiltriert und mit etwas Aethylalkohol gewaschen. Die Umkristallisation aus Essigester lieferte 1,2 g reines Dinitropseudocubebin vom Smp. 240°C in Form 1 cm langer, gelber Nadeln.

Spez.Drehung $[\alpha]_D^{18} = +35,5^\circ$ in Chloroform [7]

(240 mg in 25 ml Chloroform; l = 1,0 dm) c = 0,96

b) Das Verhalten von Aschantin gegen Salpetersäure

0,4 g Aschantin sollten unter den oben beschriebenen Versuchsbedingungen nitriert werden. Nach Zugabe der berechneten Salpetersäure-Eisessigmischung erhielten wir sofort eine rotbraune Lösung, aus der selbst nach tagelangem Stehen im Kühlschrank keine Kristallisation zu bemerken war.

10) Der Nachweis von Piperonylsäure nach Pyrolyse von Aschantin

0,1 g Aschantin wurde im Sublimationsblock in einem 1 cm

weiten und 1,5 cm hohen Gläschen mit einer Bunsenflamme langsam erhitzt. Der kleine Glaszylinder wurde mit einem Deckglas abgedeckt, auf das ein mit kaltem Wasser gefülltes Gläschen zur Kühlung gestellt wurde.

Die Substanz wurde auf 290°C erhitzt, wobei von 200°C an die Deckgläschen nach jeder Temperaturerhöhung der Schmelze um 10°C gewechselt wurden.

Wir beobachteten bei 180°C eine beginnende Gelbfärbung des geschmolzenen Aschantins. Bei 230°C setzte in steigendem Maße die Abscheidung eines Sublimationsproduktes an den Deckgläsern ein, das zunächst farblos, von 270°C an jedoch bräunlich gefärbt war.

Die Ausgangssubstanz war beim Abbruch des Versuches bei 290°C dunkelbraun gefärbt und von heliotropinartigem Geruch.

Sämtliche Sublimate ließen unter dem Polarisationsmikroskop kristalline Struktur erkennen, ergaben aber keine klaren Schmelzpunkte.

Die Sublimate, im folgenden Sublimat A genannt, wurden in 2 ml Methanol aufgenommen und wie Piperonylsäure chromatographiert.

Als Vergleichssubstanzen wurden aufgetragen:

Das auf analoge Weise (Pyrolyse) erhaltene Sublimat aus Pseudocubebin	= Subl. Ps
Piperonylsäure	= P
3,4,5-Trimethoxybenzoesäure	= T

Die Chromatogramme von Sublimat A zeigten drei, die der Vergleichssubstanzen je einen Fleck.

Chromatographie in 2%iger Essigsäure:

Subl. A	Rf_1= 0,33	Rf_2= 0,51	Rf_3= 0,66
Subl. Ps		Rf = 0,51	
P		Rf = 0,51	
T			Rf = 0,65

Chromatographie in 30%iger Essigsäure:

Subl. A	Rf_1 = 0,5	Rf_2 = 0,78	Rf_3 = 0,9
Subl. Ps		Rf = 0,78	
P		Rf = 0,78	
T			Rf = 0,9

Auf allen Chromatogrammen trat die blaugrüne Phosphoreszenz der Piperonylsäure bei Rf = 0,51 bzw. Rf = 0,78 deutlich in Erscheinung.

11) Die katalytische Hydrierung von Aschantin mit Palladium-Kohle

a) Die Bereitung des Palladium-Kohle-Katalysators[+)]

2,0 g Tierkohle MERCK wurden mit einer in der Wärme bereiteten und filtrierten Lösung von 0,5 g Palladium-II-chlorid MERCK versetzt. Nach quantitativer Reduktion mit H_2 wurde der Katalysator zunächst mit Wasser, dann mit absol. Aethanol gewaschen und ziemlich trocken gesaugt.

b) Hydrierung von Pseudocubebin zum Diol P als Modellversuch[10)]

1,0 g Pseudocubebin wurde in 50 ml Eisessig gelöst und unter Verwendung von 1,0 g Palladium-Kohle als Katalysator in einer vollständig aus Glas bestehenden Apparatur bei 18°C und normalem Druck hydriert. Hierbei wurden 120 cm^3 Wasserstoff entsprechend 2 Mol H_2 innerhalb von 3 Stunden aufgenommen.

Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und mit 10 ml n/2-alkoholischer Kalilauge 1/2 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Es wurde mit Salzsäure gegen Lackmus neutralisiert und mit Aether ausgeschüttelt.

Wir filtrierten die vorher auf 30 ml eingeengte, säurefrei gewaschene und getrocknete Aetherfraktion über eine kleine

---

+) HOUBEN-WEYL, Method.d.Org.Chemie, Band IV, S. 168, 1955

Säule von neutralem Al_2O_3, aktiv,"MERCK"(h = 1 cm; ∅ 1 cm) und erhielten eine farblose, aetherische Lösung. Das Filtrat wurde bis auf 5 ml abdestilliert und in der Wärme solange mit Petrolaether versetzt, bis sich die auftretende Trübung gerade noch auflöste.

Aus der erkaltenden Lösung schieden sich farblose Kristalldrusen ab. Smp. 103°C. Ausbeute: 0,5 g kristallines Produkt und 0,2 g sirupartige, nicht kristallisierende Masse.

Spez.Drehung $[\alpha]_D^{20} = -35,8^\circ$ in Chloroform

(84,7 mg in 5 ml Chloroform; l = 1 dm) c = 1,695

c) IR-Absorptionsspektrum des Diol P
(Abb.5; Tab.8)

Das Spektrum wurde von 4000 bis 850 cm^{-1} mit einem vollautomatischen BECKMAN-IR 5-Spektrophotometer in Chloroform gemessen.

Tab. 8

Banden-Frequenz $[cm^{-1}]$		
s	m	w
	3620	
	3420	
3000		
2890		
		2405
		1775
		1620
1510		
1490		
1440		
		1360
1245		
		1125
		1100
1043		
	1010	
930		
		865

s = starke
m = mittelstarke
w = schwache Banden

d) Azetylierung von Diol P zu Azetyl-P

0,2 g Diol P wurden nach Zugabe von 0,7 g Natriumazetat und 7 ml Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler 1 Stunde lang in der Siedehitze azetyliert. Die erkaltete Lösung wurde tropfenweise in 50 ml eisgekühltes Wasser gegeben. Azetyl-P setzte sich als dickflüssige, schmierige Masse ab und wurde mit Aether ausgeschüttelt. Ausbeute: 0,15 g einer sirupösen, farblosen, nicht kristallisierenden Masse.

e) IR-Absorptionsspektrum von Azetyl-P
(Abb.5; Tab.9)

Die Aufnahme erfolgte mit einem vollautomatischen BECKMAN-IR 5-Spektrophotometer im Frequenzbereich 4000 bis 850 cm^{-1} in Chloroform.

Tab. 9 Banden-Frequenz $[cm^{-1}]$

s	m	w
3000		
2890		
		2750
		2390
1730		
	1610	
1510		
1490		
1442		
1370		
1245		
	1125	
	1100	
1040		
		985
935		
	865	

s = starke
m = mittelstarke
w = schwache Banden

f) Die Hydrierung von Aschantin zu einem Monol-Diol-Gemisch G

1,0 g Aschantin wurde in 50 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe des Katalysators (1,0 g Palladium-Bariumsulfat) bei

18°C und normalem Druck in einer Glasapparatur hydriert. Nach 6 Stunden wurden weitere 0,5 g Katalysator hinzugesetzt. Die Reaktion kam nach 12 Stunden bei einem H_2-Verbrauch von 87 cm^3 zum Stillstand.

Die Lösung wurde zur Entfernung des inaktivierten Katalysators durch einen Porzellanfiltertiegel gesaugt und sodann mit 1,0 g eines frisch bereiteten und mit Wasserstoff abgesättigten Palladium-Kohle-Katalysators versetzt.

Es wurden daraufhin innerhalb von 16 Stunden weitere 30 cm^3 H_2 aufgenommen. Der Gesamtverbrauch betrug also nach 28stündiger Reaktionszeit 117 cm^3 H_2; das sind etwas weniger als 2 Mol Wasserstoff.

Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und nach der unter D 11 b) beschriebenen Weise aufgearbeitet.

Wir erhielten 0,7 g eines gelblichen, sirupartigen Produktes, das im folgenden Monol-Diol-Gemisch G genannt wird. Kristallisationsversuche in den verschiedensten Mischungen von Petrolaether-Aether, Aether-Methanol und Petrolaether-Methanol mißlangen.

Das Monol-Diol-Gemisch G wurde auf Fluoreszenzplatten dünnschichtchromatographiert (s. auch D 2). Als Elutionsmittel diente eine Mischung von 60 ml Cyclohexan und 40 ml Essigester.

Monol-Diol-Gemisch G	Rf_1= 0,10
	Rf_2= 0,21

Als Vergleichssubstanzen wurden verwendet:

Aschantin	= A	Rf = 0,49
Hydriertes Pseudocubebin	= Diol P	Rf = 0,29
Pseudocubebin	= Ps	Rf = 0,78

g) IR-Absorptionsspektrum vom Monol-Diol-Gemisch G (Abb.6; Tab.10)

Die Aufnahme erfolgte mit dem BECKMAN-IR 5-Spektrophotometer

von 4000 bis 850 cm^{-1} in Chloroform.

Tab. 10 Banden-Frequenz $[cm^{-1}]$

s	m	w
3040	3650	
2950		
		2420
		1720
1600		
1510		
1495		
1470		
1420		
1335		
1230		
1132		
1045		
1005		
970		
940		
	930	
		870

s = starke
m = mittelstarke
w = schwache Banden

h) Azetylierung von Monol-Diol-Gemisch G zu Azetyl-G und Azetylbestimmung

Wir führten die Umsetzung unter denselben Bedingungen aus, wie sie bei der Azetylierung von Diol P zu Azetyl-P (D 11 d) beschrieben wurden.

Wir azetylierten 0,33 g Substanz und erhielten 0,25 g eines öligen, gelblichen Azetylproduktes, das im Vakuum (100°C; 14 mm Hg) 8 Stunden lang getrocknet wurde.

Zur Azetylbestimmung wurde die Substanz mit Schwefelsäure verseift.

Azetyl-G: Mol.Gew. 488,52 (ber.f.Di-Azetat)

Gefunden: 11,71 % $COCH_3$

Das entspricht einer Anzahl von 1,33 Azetylgruppen.

k) IR-Absorptionsspektrum von Azetyl-G
(Abb.6; Tab.11)

Das Spektrum wurde mit einem BECKMAN-IR 5-Spektrophotometer von 4000 bis 850 cm^{-1} in Chloroform aufgenommen.

Tab. 11 Banden-Frequenz $\left[cm^{-1}\right]$

s	m	w
3000		
2930		
		2390
1730		
1590		
1510		
1485		
1465		
	1440	
	1420	
	1370	
	1330	
1240		
1135		
1040		
	1005	
	930	
		865

s = starke
m = mittelstarke
w = schwache Banden

Literaturverzeichnis

1) ADLER,E.,Proceedings of the Fourth International Congress of Biochemistry Vienna 1958, Vol.II,Symp.II: Biochemistry of Wood, p.137; published by PERGAMON PRESS
2) BERGER,F., Handbuch der Drogenkunde, Band III, Wien-Düsseldorf (1952)
3) BERGER,F., D.D.Z. 6, 228 (1951)
4) BERGER,F., Österr.Apotheker-Ztg., 13.Jg. Folge 23 v.6.Juni 1959
5) BIRCH,A.J.;LIONS,F., J.Proc.Roy.Soc. New South Wales 71, 391-405 (1937)
6) BLAGOWESTSCHENSKI,A.W., Die biochem.Grundlagen d.Evolutionsprozesses der Pflanzen, Berlin 1955
7) BOESEKEN,J.;COHEN,W.D., ref. C. 1572 (1929); 2925 (1936)
8) BRIGGS,L.H.;LOCKER,R.H., J.chem.Soc. London (1949;3) 2158
9) BRIGGS,L.H.;COLEBROOK,L.D. et al., Analytic.Chem. 29, 904-910 (1957)
10) BRUCHHAUSEN,F.v.;GERHARD,H., Ber.dtsch.chem.Ges. 72, 830-838 (1939)
11) CARNMALM,B.;ERDTMAN,H.;PELCHOWICZ,Z., Acta chem.scand. 9, 1111 (1955)
12) CARNMALM,B., Acta chem.scand. 10, 134 (1956)
13) CASSOLA, J.Chim.Méd. 10, 685 (1834)
14) COLTHUP,N.B., J.opt.Soc.America 40, 397 (1950)
15) ENGLER,A.;PRANTL,K., Die natürlichen Pflanzenfamilien Abtlg.III/1 (1894)
16) ERDTMAN,H., Svensk.kem.Tidskr. 46, 229 (1934)
17) ERDTMAN,H., Liebigs Ann.Chem. 503, 283 (1933); 516, 612 (1935)
18) ERDTMAN,H.;GRIPENBERG,J., Acta chem.scand. 1, 71-75 (1947)
19) FITTIG,R.;MIELCH,W.H., Liebigs Ann.Chem. 152, 40 (1860)
20) FLÜCKIGER, Pharmakognosie des Pflanzenreiches, Berlin 1883
21) FREUDENBERG,K.;NIEDERCORN,F., Chem.Ber. 91, 591 (1958) und frühere Arbeiten
22) GATTERMANN,L., Praxis d. org. Chemikers, Berlin 1956

23) GRAEBE,C.;MARTZ,E., Liebigs Ann.Chem. 340, 219 (1905)
24) GRAVILL,Ed., Journ. and Transact. Ser.III (15), p.107
25) HALBERKANN,J., Arch.Pharmaz. 254, 246 (1916)
26) HAWORTH,R.D., J.chem.Soc. London 33, 266 (1936)
27) HAWORTH,R.D.;KELLY,W., J.chem.Soc. London 384 (1937)
28) HAWORTH,R.D.;WOODCOCK,D., J.chem.Soc. London 1054 (1939)
29) HEARON,W.M.;MacGREGOR, Chem.Reviews 55, 980 (1955)
30) HOPPE, Drogenkunde, 7.Auflage, 1958
31) KLASON,P., Svensk kem.Tidskr. 9, 133 (1897)
32) KLOSA,J., Entwicklung und Chemie der Heilmittel I Berlin 1952
33) KRATZL,K.;BILLEK,G.;KLEIN,E.;BUCHTELA,K., Mh.Chem. 88, 721 (1957) und frühere Arbeiten
34) MAMELI,E., Gazz.chim.ital. 37, II, 483 (1907)
35) MORITZ,O., Einführung i.d.allgemeine Pharmakognosie Jena 1953
36) PEINEMANN,K., Arch.Pharmaz. 234, 210 (1896)
37) STAHL,E., Pharmazie 11, 633 (1956)
38) STAHL,E., Chemiker-Ztg. 82, 323-329 (1958)
39) STAHL,E., Arch.Pharmaz. 8/9, 411-416 (1959)
40) STAHL,E., Pharmaz.Rdsch. 2, 1-6 (1959)
41) STAMM,O.A.;SCHMID,H.;BÜCHI,J., Helv.chim.Acta 41, 2006 (1958)
42) VONASEK,F.;HEROUT,V.;SORM,F., Coll.Czech.Chem.Comm. 25, 919-926 (1960)
43) EEGRIWE,E., Z.analyt.Chem. 110, 22 (1937)

Lebenslauf

Am 29. September 1931 wurde ich, Dieter, Alfred Zander, Sohn des Bankkaufmanns Alfred Zander und seiner Ehefrau Mariechen, geb. Arlt, in Berlin geboren. Ostern 1938 wurde ich in die 2. Gemeindeschule in Falkensee bei Berlin eingeschult. Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich von 1942 an die Falkenseer Oberschule, an der ich im Juni 1951 die Reifeprüfung ablegte. Zum 1. Juli des gleichen Jahres trat ich als Apotheker-Praktikant in die Löwen-Apotheke in Falkensee ein. Das letzte Vierteljahr meiner Lehrzeit absolvierte ich in der Adler-Apotheke in Berlin-Spandau und bestand im Juni 1953 die pharmazeutische Vorprüfung. Zum Wintersemester 1953/54 begann ich das Pharmaziestudium an der Technischen Universität Berlin, das ich dann nach Ablauf des zweiten Studiensemesters an der Freien Universität in Berlin fortsetzte. Das Studium beendete ich mit Ablegung der pharmazeutischen Prüfung im November 1956 in Berlin. Nach einjähriger Kandidatenzeit erhielt ich mit Wirkung vom 1. Dezember 1957 die Approbation als Apotheker. Seit dem Jahre 1958 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. HÄNSEL, Direktor des Instituts für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin.

Fotodruck Arno Brynda, Berlin W 35